



# **INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

### **HPV COMO INDUTOR NA GÊNESE DE LESÕES NA CAVIDADE ORAL E NA OROFARINGE**

Trabalho submetido por  
**Ana Teresa Moniz da Rocha Borges**  
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

**setembro 2015**





# **INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

### **HPV COMO INDUTOR NA GÉNESE DE LESÕES NA CAVIDADE ORAL E NA OROFARINGE**

Trabalho submetido por  
**Ana Teresa Moniz da Rocha Borges**  
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por  
**Prof. Doutora Perpétua Gomes**

**setembro de 2015**



## **Agradecimentos**

Estes últimos anos foram complexos e caminhar pelo desconhecido, à partida, não seria fácil. Houve momentos de desmotivação e estar constantemente longe de “casa” foi algo que se tornou cada vez mais difícil ao longo dos anos. Mas foi a minha persistência e as pessoas que encontrei pelo caminho, que me fizeram chegar a este momento.

A presente Monografia, e os méritos que ela possa ter, deve-se também às pessoas que durante a sua elaboração aconselharam-me, auxiliaram-me e deram-me motivação para a sua realização e concretização.

Neste sentido, é imprescindível o agradecimento à Prof. Doutora Perpétua Gomes, minha orientadora, pela condução, apoio, confiança, disponibilidade e empenho ao longo deste trabalho.

Ao Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, ao seu corpo docente, à Direção e Administração por proporcionarem um ambiente criativo que permite aos seus alunos que evoluam e adquiram bases sólidas de conhecimento para a sua vida profissional.

Esta caminhada, agora conseguida, resulta da vontade em agradecer todo o apoio dos meus pais, que contribuíram para que conseguisse agarrar a oportunidade de obter mais conhecimentos e de me tornar na profissional que posso ser hoje.

À minha mãe, que mesmo distante tentou estar sempre presente e proporcionar tudo para que nada faltasse às suas duas filhas durante os seus estudos.

À minha irmã, que partilhou comigo grande parte destes últimos anos sendo essencial para ultrapassar os dias de menor paciência para o estudo, através do seu exemplo.

Ao meu pai que, muitas vezes, fez a vontade à filha e, tal como a minha mãe, foi o responsável pelo interesse que a Medicina Dentária despertou em mim.

A toda a minha restante família, avó Adriana, avô Humberto, Lô, às minhas tias e priminhos que não deixaram de acompanhar o meu percurso à distância.

Ao Diogo, meu namorado, que embora só tenha presenciado estes últimos anos de curso, teve um papel importante no reforço da minha vontade em terminar o curso, sendo constante no seu apoio a todos os níveis. Obrigada pela paciência e dedicação.

Às queridas colegas Marianita, Raquel e Guida, que se mostraram grandes amigas e foram importantes em todos os períodos difíceis, proporcionando momentos de grande alegria e amizade. A elas agradeço muito.

À minha parceira de box, Ana Sofia Santos, com quem trabalhei durante dois anos e que auxiliou o meu desempenho na clínica.

Gratifico, também, todos os que de alguma forma contribuíram para o meu sucesso na minha formação acadêmica.

## **Resumo**

As lesões associadas ao Papiloma Vírus Humano têm aumentado exponencialmente nos últimos anos, verificando-se um consequente aumento destes casos nas consultas de medicina dentária, onde, por vezes, são detetados pela primeira vez e tardiamente.

O principal objetivo desta revisão bibliográfica é reunir os conhecimentos mais relevantes para a abordagem clínica, de forma a saber lidar com as lesões provocadas pelo HPV na cabeça e pescoço. Esta revisão centraliza-se nas lesões provocadas pelo vírus na cavidade oral e na orofaringe.

Para melhor compreensão do tema é importante conhecer o vírus, a sua replicação e o modo como surgem as lesões cancerígenas. O contato com o vírus e a consequente infeção nem sempre desenvolvem lesões, no entanto, os indivíduos infetados podem contribuir para a propagação do vírus.

Contudo, estas lesões podem resultar em tumores malignos da cabeça e pescoço, que representam o sexto tipo de tumores mais prevalente no mundo, sendo os cancros oral e da orofaringe os que surgem com maior frequência e que ocorrem, em 90% dos casos, sob a forma histológica de carcinoma das células escamosas. As elevadas taxas de mortalidade referentes às lesões, podem ser consequência da deteção tardia da patologia, visto que estas podem ser assintomáticas ou podem passar despercebidas aos próprios indivíduos sendo, muitas vezes, diagnosticadas pelos profissionais de saúde quando estas se encontram em estádios mais avançados.

Por este facto, os Médicos Dentistas têm um papel preponderante na deteção precoce de lesões e, como tal, é importante aprofundar conhecimentos e continuar a investigar esta temática, para reduzir as taxas de mortalidade e morbilidade referentes a esta patologia.

Para além da necessidade de identificar e diagnosticar precocemente estas lesões, é igualmente importante contribuir para a prevenção da infeção.

**Palavras- chave:** HPV; Carcinoma; Cavidade oral; Orofaringe





## **Abstract**

The lesions associated with the Human Papilloma Virus have increased exponentially in recent years, verifying a consequent increase of these cases in a dental consultation, where sometimes they are detected for the first time and lately.

The main objective of this literature review is to gather the most relevant knowledge to clinical approach in order to know how to deal with lesions caused by HPV in head and neck. This review focus on the damage caused by the virus in the oral cavity and oropharynx.

For better understanding is important to know the virus, its replication and how the cancerous lesions arise. The contact with the virus and subsequent infection does not always develop lesions, however, infected people can contribute to the spread of the virus.

These lesions can result in malignant tumors of the head and neck, which represent the sixth most prevalent type of tumor in the world, being oral and oropharyngeal cancer, the ones that appears more frequently and which occur in 90% of cases, under the histological form of squamous cell carcinoma. The high mortality rate related to lesions, can be a consequence of late detection of the disease, since they may be asymptomatic or may go unnoticed to the individuals themselves, being often diagnosed by health professionals when these are in more advanced stages.

For this reason, the Dentists have an important role in early detection of lesions and that's why it is so important to deepen and continue to investigate this issue to reduce the rates of mortality and morbidity related to this pathology.

Apart from the need to identify and diagnose these lesions early, it is equally important to contribute to the prevention of infection.

**Key words:** HPV; Carcinoma; Oral cavity; Oropharynx



## Índice Geral

|  |    |
|--|----|
| Agradecimentos .....                               | 3  |
| Resumo .....                                       | 5  |
| Abstract.....                                      | 7  |
| Índice Geral .....                                 | 9  |
| Índice de Figuras .....                            | 13 |
| Índice de Tabelas .....                            | 15 |
| Índice de Gráficos.....                            | 17 |
| Lista de Abreviaturas.....                         | 19 |
| I. Introdução.....                                 | 21 |
| 1. HPV .....                                       | 23 |
| 1.1. O que é o HPV .....                           | 23 |
| 1.2. Replicação do HPV .....                       | 25 |
| 1.3. Prevalência .....                             | 29 |
| 1.4. Epidemiologia .....                           | 29 |
| 1.5. Carcinogénese .....                           | 33 |
| 1.5.1. Oncoproteínas .....                         | 33 |
| 1.6. Fatores de risco para a infeção por HPV ..... | 35 |
| 1.6.1 Comportamento sexual .....                   | 35 |
| 1.6.2 Raça e idade .....                           | 35 |
| 1.6.3 Género.....                                  | 35 |
| 1.6.4 Exposição ao tabaco e álcool .....           | 36 |
| 1.6.5 Estatuto socioeconómico .....                | 36 |
| 1.6.6 Imunodeficiência .....                       | 36 |
| 1.6.7 Infeção oral .....                           | 37 |
| 1.7. Sinais e Sintomas da infeção por HPV .....    | 37 |
| II. Desenvolvimento .....                          | 39 |

|   |    |
|---|----|
| 2. HPV Indutor de Lesões .....  | 39 |
| 2.1. Desenvolvimento de lesões de acordo com os tipos de HPV .....                          | 39 |
| 2.1.1. Baixo Risco.....   | 39 |
| 2.1.2. Alto Risco .....   | 40 |
| 2.1.2.1. HPV-16.....  | 41 |
| 2.2. Associação do HPV a lesões da cavidade oral e orofaringe .....                         | 42 |
| 2.2.1. HPV associado a lesões benignas .....  | 43 |
| 2.2.2. HPV associado a lesões potencialmente pré-malignas e malignas.....                   | 47 |
| 2.3. Carcinoma das células escamosas da cabeça e pescoço relacionado com HPV+ vs HPV –..... | 54 |
| 2.4. Vias de transmissão do HPV .....   | 56 |
| 2.4.1. Infecção genital.....  | 57 |
| 2.4.2. Infecção oral .....  | 57 |
| 2.5. Diagnóstico dos cancros oral e da orofaringe .....                                     | 58 |
| 2.5.1. Biópsias e amostras de saliva.....   | 59 |
| 2.5.2. Métodos de deteção do DNA do HPV .....   | 60 |
| 2.5.2.1. <i>Southern blot</i> .....   | 62 |
| 2.5.2.2. Hibridização <i>in situ</i> .....  | 62 |
| 2.5.2.3. Biomarcador- p16.....  | 63 |
| 2.5.2.4. Imunohistoquímica da p16 .....   | 65 |
| 2.5.2.5. Reação de polimerização em cadeia.....   | 65 |
| 2.5.2.6. A combinação de estratégias de testes na prática clínica .....                     | 66 |
| 2.5.2.7. Avanços contemporâneos e novas perspectivas.....                                   | 66 |
| 2.6. Tratamento .....   | 67 |
| 2.7. Prognóstico.....   | 69 |
| 2.8. Prevenção da infeção por HPV .....   | 70 |
| 2.8.1. Vacinação em Portugal .....  | 73 |

|   |    |
|---|----|
| 2.9. Importância do Médico Dentista ..... | 75 |
| 2.10. Direções Futuras.....               | 76 |
| III. Conclusões.....                      | 77 |
| IV. Bibliografia.....                     | 79 |



## **Índice de Figuras**

|   |    |
|---|----|
| Figura 1: Genoma do HPV.....  | 27 |
| Figura 2: Proteínas virais sobre o ciclo celular.. ..                                 | 28 |
| Figura 3: Prevalência do DNA do HPV no CCECP.....                                     | 32 |
| Figura 4: Frequência do HPV em diferentes regiões da mucosa oral.....                 | 43 |
| Figura 5: Verruga vulgaris oral, caso raro.....                                       | 44 |
| Figura 6: Verruga vulgaris no bordo da língua.....                                    | 44 |
| Figura 7: Condiloma acuminado na língua.....  | 45 |
| Figura 8: Condiloma acuminado no palato duro.....                                     | 45 |
| Figura 9: Hiperplasia epitelial focal.....  | 46 |
| Figura 10: Papiloma das células escamosas orais localizado na língua.....             | 47 |
| Figura 11: Papiloma das células escamosas orais localizado no palato.....             | 47 |
| Figura 12: Leucoplasia.....   | 49 |
| Figura 13: Eritroplasia.....  | 50 |
| Figura 14: Líquen plano nos lábios e mucosa jugal.....                                | 51 |
| Figura 15: Fibrose Submucosa Oral.....  | 52 |
| Figura 16: Carcinoma espinocelular no ventre lateral da língua, cavidade oral.....    | 53 |
| Figura 17: Carcinoma espinocelular no fundo do vestíbulo, cavidade oral.....          | 53 |
| Figura 18: Correlação entre o estágio da infecção do HPV e os métodos de detecção.... | 61 |
| Figura 19: Mecanismo do p16.....  | 64 |





## **Índice de Tabelas**

|   |    |
|---|----|
| Tabela 1: Proteínas virais e suas funções.....  | 27 |
| Tabela 2: Tipos de HPV de baixo risco e suas características clínicas.....                  | 40 |
| Tabela 3: Tipos de HPV de alto risco.....   | 41 |
| Tabela 4: Cancro da cabeça e pescoço HPV+ vs. HPV-.....                                     | 56 |
| Tabela 5: Métodos laboratoriais para testar HPV em doentes com cancro .....                 | 61 |
| Tabela 6: Características das três vacinas contra o HPV.....                                | 73 |
| Tabela 7: Comparação do programa de vacinação, entre Portugal e Estados Unidos (ACIP) ..... | 75 |



## **Índice de Gráficos**

|  |    |
|--|----|
| Gráfico 1: Percentagem de cancros relacionados com HPV, nos Estados Unidos, em 2009.....                               | 31 |
| Gráfico 2: As taxas de incidência para o HPV, ajustadas por sexo, raça e etnia, nos Estados Unidos de 2005 a 2009..... | 31 |
| Gráfico 3: Teoria da carcinogénese do HPV.....   | 34 |



## Lista de Abreviaturas

|        |  |
|--------|--|
| ACIP   | Advisory Committee On Immunization Practices                       |
| CCECP  | Carcinoma das Células Escamosas da Cabeça e Pescoço                |
| CDK    | Ciclina Quinase Dependente   |
| CDKN2A | Inibidor 2A da Ciclina Quinase                                     |
| DNA    | Ácido Desoxirribonucleico  |
| E      | Gene Precoce   |
| FDA    | Food And Drug Administration                                       |
| G1     | Fase G1 do Ciclo Celular   |
| HPV    | Papiloma Vírus Humano  |
| HPV+   | Papiloma Vírus Humano Positivo                                     |
| HPV-   | Papiloma Vírus Humano Negativo                                     |
| IARC   | International Agency for Research on Cancer                        |
| IHQ    | Imunohistoquímica  |
| ISH    | Hibridização <i>In Situ</i>  |
| L      | Gene Tardio  |
| LCR    | Região Longa de Controlo   |
| mRNA   | Ácido Ribonucleico Mensageiro                                      |
| p16    | Proteína 16  |
| p53    | Proteína 53  |
| PCR    | Reação de Polimerização em Cadeia                                  |
| PNV    | Programa Nacional de Vacinação                                     |
| pRb    | Proteína Retinoblastoma  |
| Rb     | Retinoblastoma   |
| RNA    | Ácido Ribonucleico   |
| RT-PCR | Transcriptase Reversa seguida da Reação de Polimerização em Cadeia |
| S      | Fase de Replicação do Ciclo Celular                                |
| UE     | União Europeia   |



## I. Introdução

A abreviatura HPV identifica o Papiloma Vírus Humano, da família *Papillomaviridae*, e é responsável por causar uma doença sexualmente transmissível, sendo mais conhecido como o indutor do cancro do colo do útero. O aumento da prática de comportamentos sexuais, tais como o sexo oral e anal, relacionada com o aumento do número de parceiros sexuais ao longo da vida, têm contribuído para a sua propagação na cavidade oral e orofaringe. (D'Souza, Cullen, Bowie, Thorpe, & Fakhry, 2014)

Deste modo, este tema torna-se relevante para profissionais de saúde oral, uma vez que, estudos clínicos recentes têm considerado o vírus como fator etiológico de 25% dos carcinomas das células escamosas da cabeça e pescoço, no qual prevalece o HPV-16. (Betiol et al., 2013; Michl et al., 2010; Woods et al., 2014)

Para além disso, como aluna do final de curso de Medicina Dentária, e com dois anos de experiência em clínica integrada, na clínica Egas Moniz, senti que durante as consultas de patologia oral havia necessidade em aprofundar o meu conhecimento acerca das lesões encontradas na cavidade oral. Além disso, foi também através destas consultas que me confrontei com situações graves para os doentes e percebi que, muitas vezes, são os Médicos Dentistas os primeiros a detetar estas lesões, daí a importância em identificá-las, saber como atuar e quais os passos seguintes a dar.

Estas consultas despertaram em mim curiosidade, pois muitos desses doentes chegam sem qualquer conhecimento sobre as lesões potencialmente malignas que possuem, o que me fez perceber a urgência da situação e a extrema necessidade que existe em formar Médicos Dentistas que saibam alertar, ajudar e lidar com estas lesões.

A presente monografia consiste numa revisão sistemática da literatura com foco nas lesões provocadas pelo Papiloma Vírus Humano, na cabeça e pescoço. Faz parte do Mestrado Integrado em Medicina Dentária, ministrado no Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, sob orientação pedagógica da Prof. Doutora Perpétua Gomes.

Assim, e como nunca tinha realizado um trabalho aprofundado sobre o assunto, optei, juntamente com a minha orientadora, por abordar este tema de extrema importância, visto tratar-se de uma patologia que, recentemente, tem vindo a aumentar a

nível mundial, que provoca carcinomas malignos e afeta, maioritariamente, população mais jovem que, muitas vezes, desconhece este tipo de lesões.

Este trabalho encontra-se restringido às lesões da cavidade oral e da orofaringe, com o objetivo de abordar uma realidade atual, propondo aos Médicos Dentistas uma avaliação geral e cuidada da cavidade oral e da orofaringe, de forma a contribuirmos para que estas lesões sejam, cada vez mais, diagnosticadas precocemente. Assim, pretende-se:

- Aprofundar o conhecimento sobre o Papiloma Vírus Humano, fornecendo aos Médicos Dentistas uma visão geral sobre a infeção;
- Identificar alterações na cavidade oral e na orofaringe que possam ser potencialmente malignas ou malignas;
- Orientar para os procedimentos a ter aquando da suspeita de lesões;
- Definir estratégias de tratamento e de prevenção para a infeção por HPV;
- Referir a importância do Médico Dentista na identificação destas lesões.



## 1. HPV

### 1.1. O que é o HPV

O HPV é um vírus que foi inicialmente identificado em coelhos, no ano de 1933, como sendo transmissível e causa de papilomas benignos. Foi só em 1956 que foi descoberto em humanos e hoje estão identificados mais de 100 subtipos, que podem estar presentes tanto nas células epiteliais da pele e das mucosas, tal como nos genitais, na abertura anal, na cavidade oral, na orofaringe e na hipofaringe. (Blitzer, Smith, Harris, & Kimple, 2014; Marklund & Hammarstedt, 2011; Michl, Pazdera, Prochazka, Pink, & Stosova, 2010)

Relacionado desde 1970 com a patogénese que provoca o carcinoma das células escamosas, só em 1995 a *International Agency for Research on Cancer (IARC)*, reconheceu o HPV-16 e HPV-18 como carcinogénicos em humanos. (Woods et al., 2014)

Ainda em 2008, o HPV obteve destaque para a atribuição do Prémio Nobel de Fisiologia ou Medicina que galardoou Harald zur Hausen, médico alemão, que estudou o Papiloma Vírus Humano e demonstrou que este é a causa de vários tipos de cancro humano. (Blitzer et al., 2014)

O carcinoma das células escamosas da cabeça e pescoço está relacionado com cinco principais zonas anatómicas, cavidade oral, orofaringe, nasofaringe, hipofaringe e laringe, no entanto, números apontam para uma maior percentagem de carcinomas na orofaringe, comparativamente à cavidade oral. (Chai, Lambie, Verma, & Punyadeera, 2015)

Na Europa, os cancros oral e da orofaringe constituem 3-5% das neoplasias malignas, paralelamente, atingem os 40-50% na Índia e em partes do sudeste da Ásia, sendo estes números associados a fatores de risco já conhecidos ao longo dos anos, como o tabagismo, tabaco de mascar e o consumo crónico de álcool. (Marklund & Hammarstedt, 2011).

Ainda assim, estes números são menores na Europa devido às campanhas antitabágicas, que favoreceram a diminuição do consumo de tabaco, a partir do

momento que foram desenvolvidas campanhas com imagens e frases remetentes aos perigos deste hábito, o que conseqüentemente, contribuiu para a diminuição da incidência do número de carcinomas das células escamosas da cabeça e pescoço. (Marklund & Hammarstedt, 2011)

Por outro lado, verifica-se, atualmente, um aumento da incidência do carcinoma das células escamosas da orofaringe e a prevalência de HPV oral, devido à infecção por este vírus, relacionada com os comportamentos sexuais, seja por contato oral- genital, oral- oral ou ainda por transmissão materna. (D'Souza et al., 2014; Dalianis, 2014)

Por este motivo, o carcinoma das células escamosas da cabeça e pescoço tem vindo a mudar ao longo dos últimos 10 a 15 anos, sendo classificado, atualmente, como o sexto tipo de cancro mais frequente no Mundo, com aproximadamente 63 3000 novos casos diagnosticados e 35 5000 mortes, anualmente. (Chaturvedi, 2012; Marklund & Hammarstedt, 2011; Woods et al., 2014)

Por conseguinte, os cancros relacionados com o HPV contabilizam cerca de 30%-65%, mais de metade de todos os cancros da cabeça. (Blitzer et al., 2014)

É igualmente importante referir que mais de 90% dos carcinomas da cabeça e do pescoço são carcinomas espinocelulares e originam-se nos tecidos epiteliais dessas regiões. (Mojtahedi et al., 2010)

Sabe-se que o carcinoma das células escamosas da cabeça e pescoço, pode estar relacionado com diferentes etiologias, sendo, por isso, possível dividi-lo em dois subgrupos: HPV+ e HPV-, que divergem consoante o seu perfil clínico e biológico. Dos carcinomas das células escamosas da cabeça e pescoço associados ao HPV+, 70% referem-se ao cancro da orofaringe. Os carcinomas associados ao HPV+ diferem dos restantes que estão associados apenas ao abuso de consumo de tabaco e álcool ou a alterações genéticas que, por sua vez, são induzidos por HPV-, ou seja, não relacionados com o vírus. (Thiers, 2008; Westra, 2009)

Deste modo, cancros positivos para o HPV encontram-se agora em maioria no mundo ocidental. Contudo, e tendo em conta as suas diferenças clínicas e biológicas, os carcinomas das células escamosas da cabeça e pescoço induzidos pelo HPV são caracterizados por terem melhor prognóstico que os carcinomas negativos para o HPV,

uma vez que também respondem melhor aos tratamentos. (Marklund & Hammarstedt, 2011; Woods et al., 2014)

## **1.2. Replicação do HPV**

O Papiloma Vírus Humano, pertence a um grupo de pequenos vírus sem envólucro, com 55 nm de diâmetro, cadeia dupla de DNA, com aproximadamente 8 000 pares de base e é dividido em 3 grandes regiões: genes precoces; genes tardios e região longa de controlo, que estão envolvidas na replicação do vírus. (Betiol, Villa, & Sichero, 2013; Marklund & Hammarstedt, 2011; Medina, Medina, & Merino, 2010)

Após o vírus atravessar a camada basal das células epiteliais, dá-se a sua replicação no núcleo dessas células infetadas e maturação na camada suprabasal. Embora este vírus seja altamente transmissível, pode acontecer que a infeção permaneça de 3 formas: latente, no caso de as cópias de DNA do HPV serem insuficientes para a sua transmissão; subclínicas no caso de a infeção estar ativa, mas sem sinais clínicos; clínica com lesões benignas ou malignas. (Feller, Khammissa, Wood, & Lemmer, 2009)

Os vírus podem ser classificados com base na sua proteína L1, dos genes tardios. Assim, existem mais de 100 subtipos que podem ser subclassificados em subtipos cutâneos ou das mucosas, com base no seu tropismo, que confere especificidade aos tecidos. (Blitzer et al., 2014)

Contudo, não se sabe ao certo porque o HPV pode infetar camadas basais de células epiteliais na primeira instância, mas não as células de outras camadas epiteliais. No entanto, suspeita-se que esteja relacionado com os recetores de superfície específicos confinados a células basais. A ligação do vírus ao recetor de membrana da célula basal pode ser mediada por sulfato de heparina, e o vírus ligado a este entra na célula através do processo de endocitose. Assim, à medida que as células basais se dividem o gene E2 medeia a distribuição de algumas cópias de DNA de HPV para as células filhas, enquanto permanecem algumas cópias nas células progenitoras. (Blitzer et al., 2014)

O genoma do HPV codifica para 8 proteínas virais (Tabela 1), que por sua vez, regulam o ciclo de replicação do vírus. (Blitzer et al., 2014)

Os genes precoces (E1 - E7) atuam na regulação da transcrição, na replicação e na transformação viral. Já o código de genes tardios das proteínas estruturais da capsíde maior (L1) e menor (L2), está envolvido na encapsidação do genoma viral e na libertação do vírus. A região longa de controlo (LCR) contém os elementos reguladores para a transcrição e replicação do vírus (Figura 1). (Chai et al., 2015)

A interação entre a capsíde viral e a membrana citoplasmática da célula permite que ocorra penetração do vírus. Assim, na camada basal do epitélio dá-se a replicação do DNA viral, através dos genes E que ativam a transcrição. (Ramos, José, & Ferreira, 2012)

Por sua vez, os genes L1 e L2 codificam as proteínas da capsíde viral que encapsulam o DNA viral, embora não desempenhem qualquer papel na carcinogénese, são importantes na resposta imunitária à infeção pelo HPV. (Blitzer et al., 2014)

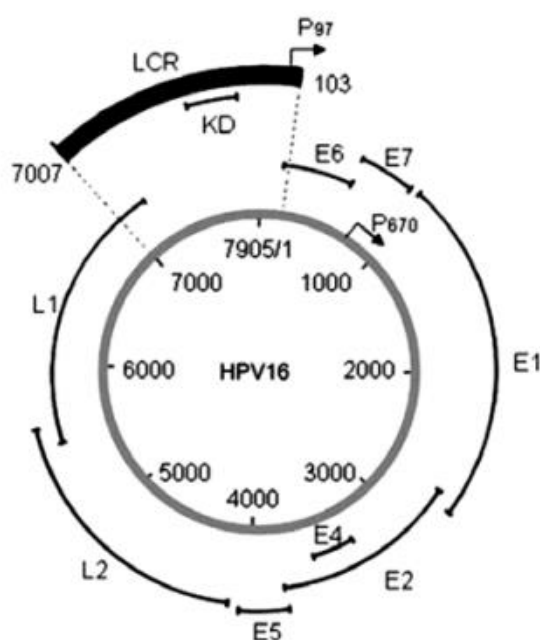
Os genes precoces E1 e E2 são importantes para a replicação do genoma viral e desempenham um papel na regulação da transcrição de outros genes virais. (Blitzer et al., 2014)

Contudo, são os genes E6 e E7 que codificam as principais oncoproteínas do HPV, induzindo a progressão do ciclo celular e replicação do DNA viral. O principal papel da proteína E7 é reprogramar células epiteliais diferenciadas na superfície do epitélio, a fim de as células hospedeiras conseguirem reentrar no ciclo celular, o que é necessário para que se dê a replicação do DNA viral. (Chai et al., 2015)

Por sua vez, a proteína E4 facilita a libertação de partículas virais para o ambiente e podem, também, desempenhar um papel na paragem de G2, no ciclo celular. (Blitzer et al., 2014)

**Tabela 1 - Proteínas virais e suas funções.** Adaptado de (Dalianis, 2014)

| Viral Protein | Functions and Features  |
|---------------|---|
| E1            | It forms a heterodimer complex with E2 and controls viral replication               |
| E2            | It regulates early gene promoter and together with E1 viral DNA replication         |
| E4            | It may mediate the viral particle release by destabilizing cytokeatin network       |
| E5            | It stimulates mitogenic signals of growth factors                                   |
| E6            | It inactivates many cellular proteins and is one of the major viral oncoproteins    |
| E7            | It inactivates many cellular proteins and is one of the major viral oncoproteins    |
| L1            | It is the major capsid protein and is the component of the HPV prophylactic vaccine |
| L2            | It is the minor capsid protein  |

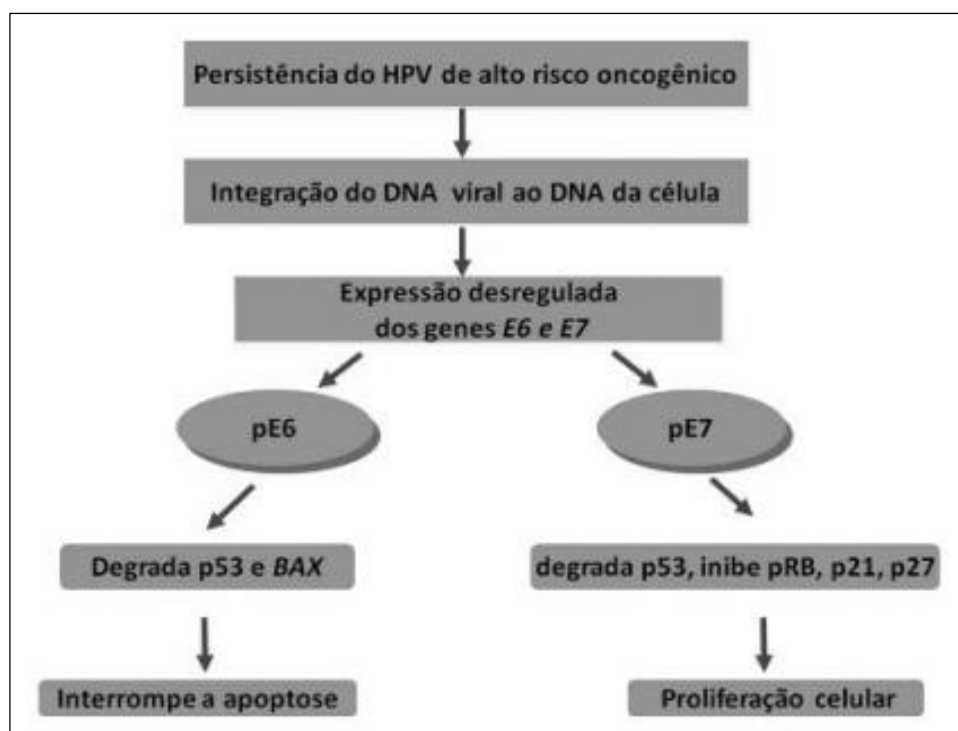
**Figura 1- Genoma do HPV.** Adaptado de (Dalianis, 2014)

A oncoproteína E6 provoca a degradação da p53, uma proteína que evita a propagação de células geneticamente defeituosas e que pode ser mediada pelo E7. Assim, leva à inibição da apoptose dessas células e, conseqüentemente, ao crescimento celular desenfreado. (Blitzer et al., 2014)

As proteínas da família Rb (supressor de tumor) regulam a transição do ciclo celular da fase G1 para a fase S, através da interação com fatores de transcrição da família E2F que, por sua vez, está envolvido na regulação da progressão do ciclo celular, diferenciação, mitose e apoptose. No entanto, quando a E7 liga-se ao retinoblastoma perturba o complexo Rb-E2F, o que leva à inativação de retinoblastomas, que regulam a redução da probabilidade de uma célula se tornar em tumor, levando à proliferação celular (Figura 2). (Chai et al., 2015)

Tanto o E6 e E7 contribuem para a carcinogênese, visto que conferem potencial oncogênico ao vírus através dos seus efeitos inibitórios sobre a p53 e o retinoblastoma. Além disso, a proteína E5, de alto risco, coopera com E6 e E7 para promover a proliferação de células infectadas e, provavelmente, desempenha um papel menor na transformação. (Blitzer et al., 2014; Woods et al., 2014)

Assim, a proteína E7 é responsável por induzir a proteína p16INK4a, que é frequentemente usada como biomarcador de lesões e câncros associados ao HPV. (Chai et al., 2015)



**Figura 2 – Proteínas virais sobre o ciclo celular.** Adaptado de (Ferraz, Beatriz, Santos, & Discacciati, 2012)

### **1.3. Prevalência**

O carcinoma espinocelular oral e o carcinoma espinocelular da orofaringe são os tipos de cânceros mais frequentes do carcinoma das células escamosas da cabeça e pescoço. Só no ano 2008, havia cerca de 263 900 novos casos de carcinomas na cabeça e pescoço e foram registadas 128 000 mortes. (Chai et al., 2015)

Em 2012, a prevalência do vírus foi verificada a nível global, contabilizando 59,9% de casos nos Estados Unidos, comparados aos 39,7% na Europa e aos 32,5% no resto do Mundo. (Woods et al., 2014)

Denota-se assim, que a incidência do Papiloma Vírus Humano relacionada com o carcinoma das células escamosas da orofaringe está a aumentar nos países desenvolvidos. (Xu, Biron, Puttagunta, & Seikaly, 2013)

Por conseguinte, na última década, a prevalência do HPV, aumentou mais na Europa, e tem vindo a aumentar a um ritmo maior do que na América do Norte. (Woods et al., 2014)

Nas últimas duas décadas, o aumento da incidência de casos relacionados com HPV ocorreu ao mesmo tempo que as mesmas lesões não relacionadas com o HPV registaram um declínio de 50%, valores que são explicados pela diminuição do consumo de tabaco e álcool. (Woods et al., 2014)

Assim, atualmente, o HPV é considerado um vírus de fácil propagação, com cerca de 4,8% a 5,2% da carga total de todos os cânceros a nível global, o que faz dele o mais frequente entre todos os vírus. (Woods et al., 2014)

### **1.4. Epidemiologia**

Indivíduos com carcinoma da cabeça e pescoço positivos para o HPV representam um subgrupo de doentes com características epidemiológicas únicas e com diferentes prognósticos, sendo, atualmente, uma preocupação crescente em saúde pública, e por isso, projetado para se tornar a principal causa de carcinomas da cabeça e pescoço, nas próximas décadas. (Blitzer et al., 2014)

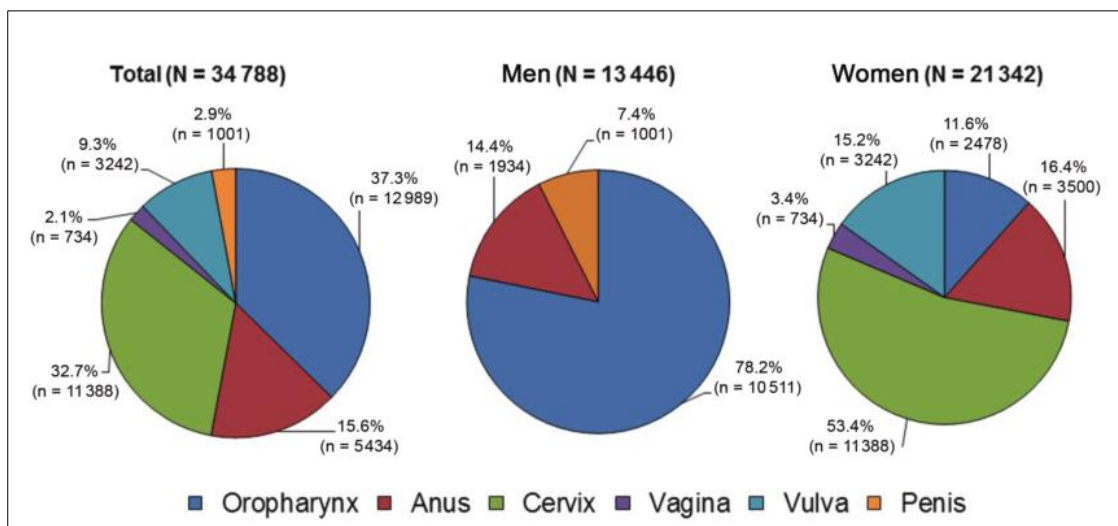
Por ser uma doença sexualmente transmissível mais comum, a sua implicação na saúde tem sido um assunto muito abordado com o intuito de travar o aumento de

neoplasias provocadas, como o cancro do colo do útero, cancro anal, cancro da vulva, cancro da vagina, cancro do pénis e da orofaringe. Contudo, até recentemente, apenas o cancro do colo do útero havia sido extensivamente estudado, pelo que a malignidade provocada na cavidade oral e na orofaringe requer ainda investigação. (Betiol et al., 2013)

No entanto, devido ao acrescido número de novos casos de cancro na cavidade oral e na orofaringe registados, houve necessidade em aprofundar o conhecimento sobre os mesmos e proceder ao seu tratamento e prevenção. Num estudo realizado em 2009, nos Estados Unidos, foram registados números que mostram uma evidência significativa dos cancros associados ao Papiloma Vírus Humano, comparativamente aos restantes tipos de cancro, contabilizando uma percentagem de 3,3% (21 342 de 646 684) num total de todos os cancros diagnosticados em mulheres, e de 2,0% (13 446 de 676 672) em homens. (Jemal et al., 2013)

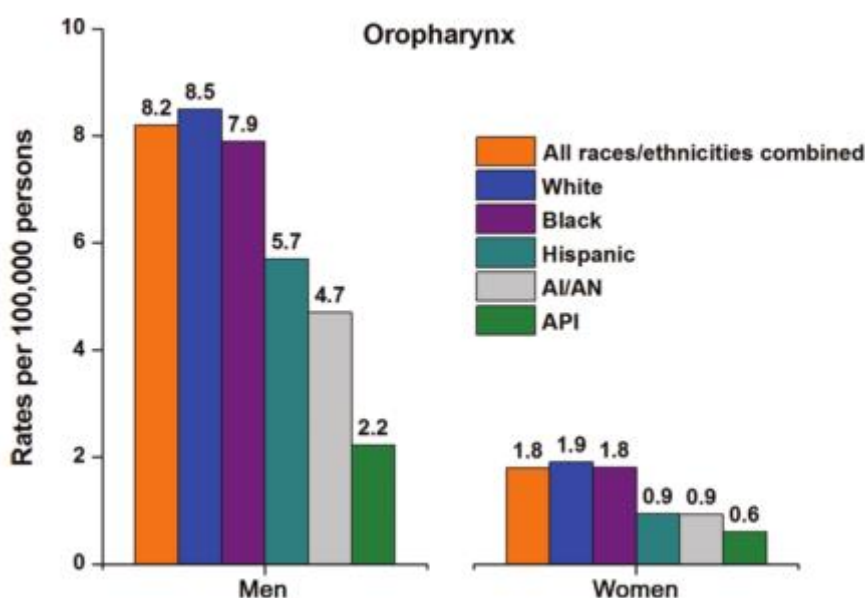
Numa análise ao gráfico 1, os cancros provocados pelo HPV tais como o da orofaringe, o cancro anal, o cancro colo do útero, o cancro da vagina, o cancro da vulva e o cancro do pénis, diagnosticados em 2009, mostra duas percentagens com valores significativos em relação aos restantes, o que comprova que os números para o cancro da orofaringe com maior percentagem (37,3%) e o cancro do colo do útero, com a segunda maior percentagem (32,7%), continuam a ser os que carecem de maior preocupação. Assim, relativamente a estes valores de 2009, é possível concluir que nas mulheres o cancro do colo do útero, contabilizava um valor superior, cerca de metade de todos os cancros, enquanto para os homens a maior percentagem de cancro era na orofaringe, seguida do cancro do ânus e do pénis. Deste modo, o cancro da orofaringe associado ao HPV para os homens era de 78,2% e apenas 11,6% nas mulheres. (Jemal et al., 2013)





**Gráfico 1- Percentagem de cânceres relacionados com HPV, nos Estados Unidos, em 2009.** Adaptado de (Jemal et al., 2013)

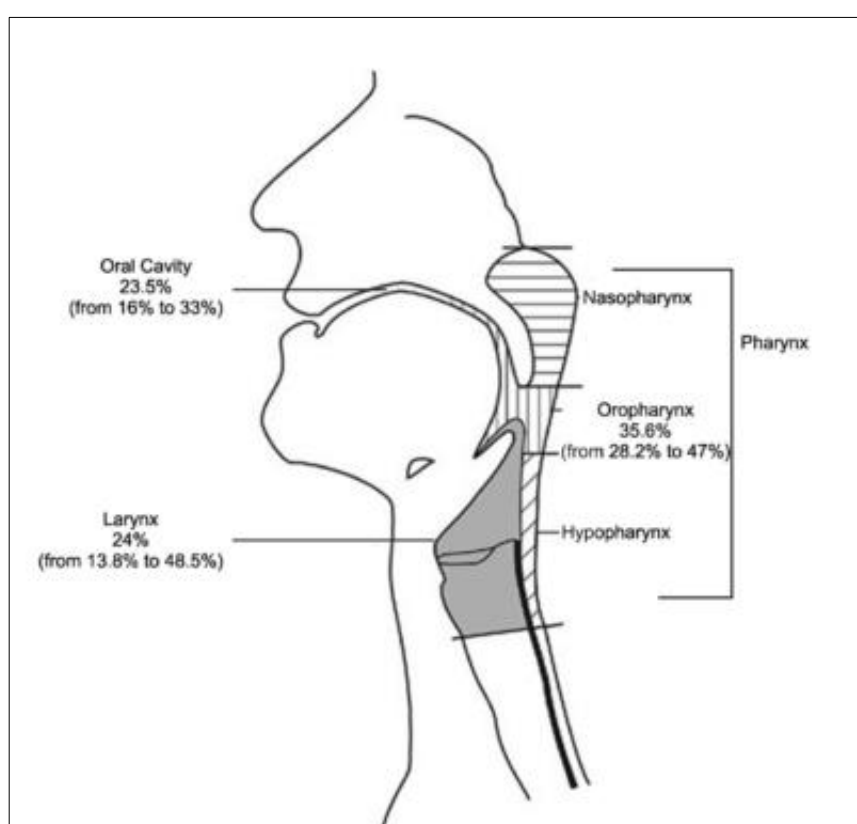
Relativamente a valores raciais, entre 2005 e 2009, as taxas de incidência de cancro na orofaringe associadas ao HPV foram mais elevadas entre os homens brancos e negros, comparativamente aos hispânicos, tendo sido observado o mesmo entre mulheres negras e brancas (Gráfico 2). (Jemal et al., 2013)



**Gráfico 2 - As taxas de incidência para o HPV, ajustadas por sexo, raça e etnia, nos Estados Unidos de 2005 a 2009.** Adaptado de (Jemal et al., 2013)

Contudo, sabe-se que esta infecção está relacionada a um fator de risco principal, o comportamento sexual, incluindo o número de parceiros sexuais, idade da primeira atividade sexual que incluam sexo oro-genital e ano-genital. Porém, existem importantes cofatores que podem comprometer a malignidade, tal como estado imunológico e nutricional da pessoa. (Betiol et al., 2013).

O carcinoma das células escamosas da cabeça e pescoço está relacionado com cinco principais zonas anatómicas, cavidade oral, orofaringe, nasofaringe, hipofaringe e laringe, no entanto é a orofaringe a zona mais afetada (Figura 3). (Chai et al., 2015)



**Figura 3 - Prevalência do DNA do HPV no CCECP.** Adaptado de (Betiol et al., 2013)

Este carcinoma pode ser dividido nos dois tipos mais comuns, em carcinoma das células escamosas da cavidade oral e em carcinoma das células escamosas da orofaringe, também conhecidos como carcinoma espinocelular, sendo que na orofaringe só em 2008 foram contabilizados 85 000 novos casos, em todo o mundo, em que 25.6% estavam relacionados com o HPV e mais de  $\frac{3}{4}$  eram homens. (Chai et al., 2015; Woods et al., 2014)

Relativamente ao cancro oral, os tumores incluem o da língua, dorso da língua, gengiva, palato duro e outros subsítios da boca, e tal como para o carcinoma das células escamosas da cabeça e pescoço, o consumo de álcool e tabaco constitui um fator de risco, no entanto cerca de 10-20% dos indivíduos com cancro oral não referem historial de exposição a estes fatores. (Betiol et al., 2013; Woods et al., 2014)

Estudos mostram que a incidência desta infeção é maior em adolescentes e adultos mais jovens, provavelmente devido aos comportamentos sexuais. No entanto, é importante referir que é provável que 75% da população sexualmente ativa possa vir a adquirir a infeção, durante toda a sua vida. (Medina et al., 2010)

Mas são as previsões, de alguns estudos, para 2020 que necessitam de alguma introspeção, pois é previsto que nessa altura, a incidência anual de cancro da orofaringe, positivo para o HPV, será maior do que a de cancro do colo do útero, o que ilustra a importância crescente desta infeção, especialmente em termos de relevância socioeconómica. (Tribius & Hoffmann, 2013)

## **1.5. Carcinogénese**

### **1.5.1. Oncoproteínas**

A exposição ao vírus pode provocar infeção, sendo necessário o DNA viral integrar-se nas células, o que leva à carcinogénese induzida por HPV. Assim, a infeção por HPV é iniciada quando o vírus entra nas células epiteliais basais, que são as células alvo do vírus. Uma vez no interior da célula, o DNA viral sofre descapsidação e é transportado para o núcleo, onde permanece o genoma de HPV. Nas células basais infetadas com HPV, as oncoproteínas E1 e E2 são expressas e regulam a transcrição do DNA viral. Contudo, é necessário que as oncoproteínas sejam codificadas pelos oncogenes E6 e E7, para promover o ciclo celular e replicação do DNA viral (Gráfico 3). Ainda assim, alguns vírus expressam os oncogenes E6 e E7, mas quando não em quantidade suficiente, o vírus não consegue desenvolver malignidade, pelo que a lesão não se desenvolve. Assim se explica o motivo pelo qual algumas pessoas são infetadas pelo vírus mas este, por sua vez, permanece latente e sem manifestações clínicas. (Chai et al., 2015; Thiers, 2008)

Desta forma, ocorrem distintas alterações moleculares genéticas, mediadas por E6 e E7, e que afetam as vias do ciclo celular, tal como acontece no carcinoma das células escamosas do colo do útero. No entanto, algumas destas alterações também podem ser encontradas no carcinoma das células escamosas não relacionadas com o HPV. (Woods et al., 2014)

Embora algumas das pessoas com infeção pelo HPV não desenvolvam cancro, a expressão de E6 e E7 é necessária, mas não suficiente para a transformação maligna. No entanto, o aumento da capacidade proliferativa e evasão de apoptose induzida por E6 e E7 podem provocar a acumulação de danos no DNA e em mutações que podem, em última instância, resultar em transformação maligna e carcinogénese. (Chai et al., 2015)

Contudo, o estudo sobre o mecanismo molecular para a carcinogénese ainda carece de investigação para se perceber alguns pormenores sobre o que acontece neste mecanismo. Assim, futuros estudos serão necessários para complementar estudos recentes, o que, por sua vez, irão contribuir para o desenvolvimento da prevenção, bem como para o tratamento de casos já existentes. (Woods et al., 2014)

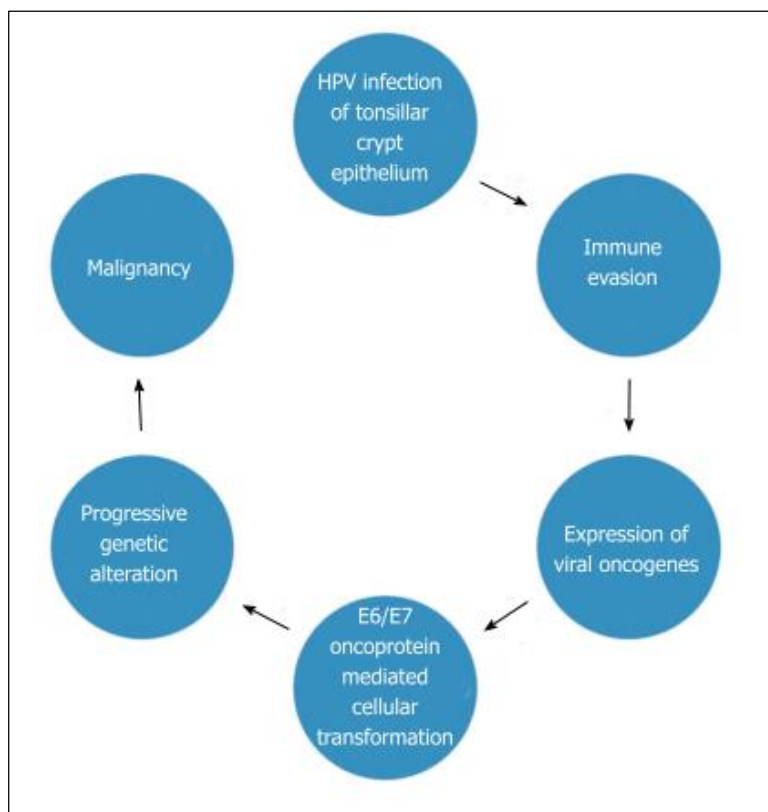


Gráfico 3 – Teoria da carcinogénese do HPV. Adaptado de (Woods et al., 2014)

## **1.6. Fatores de risco para a infecção por HPV**

Visto tratar-se de um vírus, maioritariamente, transmitido por via sexual, é legítimo referir que o comportamento sexual constitui o maior fator de risco para esta infecção. Para além do comportamento sexual, também é importante referir outros fatores de risco como a raça, a idade, o género, o estatuto socioeconómico e a relação entre a infecção e a imunodeficiência, que também pode contribuir para a evolução desta. (Medina et al., 2010)

Ainda assim, fatores como o tabaco, consumo de álcool, higiene oral deficitária e genética permanecem, em geral, importantes fatores de risco para tumores da cabeça e pescoço, no entanto, o HPV é agora reconhecido como uma das principais causas de cancro das células escamosas. (Marur, D'Souza, Westra, & Forastiere, 2010)

### **1.6.1 Comportamento sexual**

Não menos importante é o número de companheiros sexuais, o que irá contribuir para propagar o vírus, e que poderá comprometer a situação se os indivíduos iniciarem a sua atividade sexual muito jovens, pois a probabilidade de terem vários parceiros sexuais ao longo da vida é maior, podendo o vírus espalhar-se por um maior número de hospedeiros. (Medina et al., 2010).

### **1.6.2 Raça e idade**

A raça e a idade não afetam independentemente a oportunidade de infecção, pois, acima de tudo, há que ter em conta o comportamento sexual. No entanto, estudos mostram uma maior prevalência da infecção na raça caucasiana do que na raça negra (21-64% vs 0-35%). Para além disso, a idade com que se tem identificado o HPV tende a ser inferior a 60 anos, chegando a abranger mais jovens adultos. (D'Souza et al., 2014)

### **1.6.3 Género**

Visto que a prevalência do vírus HPV- 16 é maior nos homens, e o cancro das células escamosas da cavidade oral ser 5 a 7 vezes superior nos homens do que nas mulheres, rapidamente podemos chegar à conclusão que o número de parceiros de sexo oral será superior nos homens. (D'Souza et al., 2014)

#### **1.6.4 Exposição ao tabaco e álcool**

É importante ainda referir que os doentes com lesões por HPV tendem a consumir menos tabaco e álcool que os pacientes negativos para o HPV, isto porque as lesões provocadas por HPV diferenciam-se das provocadas, maioritariamente, pelo consumo crónico de tabaco e álcool. Assim, estes dois fatores de risco não são referenciados como os principais indutores de lesões, embora possam potenciá-las, o que, constitui uma das várias diferenças entre as lesões causadas pelo vírus HPV, sugerindo que os fatores de risco para estas lesões têm vindo a alterar com o passar do tempo. (Woods et al., 2014)

#### **1.6.5 Estatuto socioeconómico**

Embora refutado por alguns estudos, o carcinoma das células escamosas da cabeça e pescoço negativo para o HPV foi maioritariamente atribuído a indivíduos com um estatuto socioeconómico mais baixo, no entanto, hoje em dia o carcinoma da cabeça e pescoço positivo para o HPV é identificado em indivíduos com elevado estatuto socioeconómico, pelo que estes indivíduos costumam ser pessoas diferenciadas e mais informadas, o que contrasta com o perfil dos indivíduos com as lesões negativas para o HPV. (Woods et al., 2014)

#### **1.6.6 Imunodeficiência**

Outro fator importante é a relação que existe entre o vírus e a imunodeficiência. Na maioria das vezes, o corpo combate naturalmente o HPV, antes de este provocar quaisquer problemas de saúde. Mas em alguns casos, o corpo não consegue combater, e é por isso que a imunodeficiência é um fator de risco para um grande número de tumores. Assim, a resposta imunológica do hospedeiro irá influenciar a atuação do vírus no indivíduo e, por conseguinte, o desenvolvimento das infeções e suas manifestações clínicas, sendo esta uma das razões pelo qual indivíduos com HIV têm um risco elevado para contrair verrugas orais, provocadas pela infeção do HPV. Para além disso, há evidências de que lesões provocadas pelo HPV, tal como cancro do pénis e cancro do ânus, sejam superiores em indivíduos infetados pelo HIV e em homens que tenham tido relações homossexuais. (Cubie, 2013; Field & Lechner, 2015; Medina et al., 2010)

Desta forma, indivíduos imunodeprimidos constituem um enorme risco para desenvolver infecção pelo HPV e a progressão da infecção ser mais rápida do que nos restantes indivíduos. Assim, é importante referir que o sistema imune pode atenuar ou até impedir o desenvolvimento da infecção provocada pelo vírus, sendo, por isso, um fator muito importante no controlo da infecção. (Feller et al., 2009)

### **1.6.7 Infecção oral**

O risco de ter HPV isolado, a partir da cavidade oral, é oito vezes maior entre indivíduos sexualmente experientes, sendo por isso que a infecção oral por HPV está fortemente associada à iniciação sexual precoce, a múltiplos parceiros sexuais, e ainda possivelmente, a alguns tipos de beijos. (Blitzer et al., 2014)

Com a sua transmissão sexual e oral, o HPV foi encontrado com maior prevalência em mulheres com infecção do HPV no colo do útero. Desta forma, vários estudos reportaram que a infecção pelo HPV oral manifestou-se mais em casais e/ou em infetados pelo HIV. (Woods et al., 2014)

No entanto, pode haver fatores de risco adicionais ligados à atividade sexual, que foram correlacionados com a transmissão oral de HPV e incluem o consumo recente de tabaco, o uso de marijuana, bem como consumo de álcool. (Blitzer et al., 2014)

## **1.7. Sinais e Sintomas da infecção por HPV**

Uma vez exposto ao vírus, vários tipos de HPV podem ser encontrados, mesmo que a mucosa oral permaneça visualmente normal, quer na sua forma de infecção latente, quer de forma subclínica, e, em outros casos, como lesões benignas, potencialmente malignas ou malignas. (Feller et al., 2009)

Deste modo, devemos estar atentos ao aparecimento de alterações que possam ocorrer e considerar que estas podem carecer de alguns cuidados. Assim, se uma lesão permanecer por mais de duas semanas é indicada a realização de uma consulta com um médico. Nesse caso o médico deverá pedir outros exames, para confirmar ou não o diagnóstico. (Feller et al., 2009)

Para além disso, neoplasias malignas da região de cabeça e pescoço podem apresentar uma infinidade de maneiras de surgimento, mas na infecção pelo HPV podem aparecer sinais e sintomas como úlceras persistentes, zonas endurecidas, áreas aumentadas, feridas que não cicatrizam, dificuldade ao deglutir (disfagia) ou dor ao engolir (odinofagia), alterações de voz ou rouquidão. Estes sintomas são iniciais, e podem variar na incidência ou grau de incómodo que geram em cada paciente. (Antonio, Filho, & Javaroni, 2006; Feller et al., 2009)



## **II. Desenvolvimento**

### **2. HPV Indutor de Lesões**

#### **2.1. Desenvolvimento de lesões de acordo com os tipos de HPV**

O HPV é um vírus com DNA que pode causar infecção no epitélio da mucosa ou da pele, de acordo com o respetivo genótipo. Os tipos que infetam o epitélio da mucosa foram classificados, consoante o seu potencial oncogénico, quer em subtipos de alto risco (HPV - 16, 18, 31, 33, 35, entre outros), quer em subtipos de baixo risco (HPV - 6, 11, 13, 32, entre outros), segundo a sua capacidade para provocar transformação maligna e induzirem cancro. (Blitzer et al., 2014; Messadi, 2013)

HPVs de baixo risco têm sido implicados na patogénese de lesões proliferativas epiteliais orais benignas, como papiloma das células escamosas, verruga comum, condiloma acuminado e hiperplasia epitelial focal (Doença de Heck), enquanto os tipos de alto risco, em particular HPV-16 e HPV-18, têm sido associados a lesões epiteliais da cavidade oral e orofaringe pré-malignas e malignas. (Messadi, 2013)

As lesões papilares orais são um grupo heterogéneo de lesões com um comportamento clínico variável. (McCord et al., 2014)

##### **2.1.1. Baixo Risco**

As lesões de baixo risco (Tabela 2) para a infeção do HPV podem ser associadas a lesões papilomatosas atípicas mas com perfil benigno. (McCord et al., 2014)

Mesmo assim, dados recentes de um estudo realizado em mulheres sugeriu que tipos de HPV de baixo risco são eliminados da cavidade oral mais rapidamente do que os HPVs de alto risco. (Blitzer et al., 2014)

**Tabela 2- Tipos de HPV de baixo risco e suas características clínicas.** Adaptado por (Jemal et al., 2013; Medina et al., 2010)

| TIPOS de HPV | Lesões   | Características   |
|--------------|--|---|
| HPV-4        | Verruga vulgar   |   |
| HPV-6        | Papiloma oral<br>Verruga vulgar<br>Associado a 90% das verrugas anogenitais      | Associado ao HPV-11, constitui o grupo mais comum associado à cavidade oral |
| HPV-11       | Papiloma oral<br>Condiloma acuminado<br>Associado a 90% das verrugas anogenitais | Associado ao HPV-6, constitui o grupo mais comum associado à cavidade oral  |
| HPV-13       | Lesão papilomatosa benigna<br>Hiperplasia epitelial focal                        | Baixo risco de progressão;<br>Exclusivo à cavidade oral;                    |
| HPV-32       | Lesão papilomatosa benigna<br>Hiperplasia epitelial focal                        | Baixo risco de progressão;<br>Exclusivo à cavidade oral;                    |

### 2.1.2. Alto Risco

O Papiloma Vírus Humano de alto risco para os câncros da orofaringe, têm vindo a aumentar. No entanto, foi em 1983 que os vírus de alto risco foram inicialmente associados ao carcinoma das células escamosas da cabeça e pescoço, quando amostras histológicas identificaram a infeção em câncros orais. (Mirghani et al., 2014; Surgery & Surgery, 2014)

Mas foi desde 1995 que o HPV- 16, HPV- 18, HPV- 31, HPV-33, HPV-35 foram considerados carcinogénicos, *pela Agência Internacional de Investigação sobre Cancro (IARC, Lyon França)*, sendo estes associados a leucoplasias orais, ao carcinoma espinocelular, entre outros. (Medina et al., 2010; Messadi, 2013)

No entanto, para além destes, contabilizam-se mais tipos de alto risco, tal como HPV- 39, HPV- 45, HPV- 51, HPV-52, HPV-56, HPV-58 e HPV-66. (McCord et al., 2014)

Em 2008, *The Centers for Disease Control and Prevention* classificou o HPV de alto risco como a infeção sexualmente transmissível mais comum nos Estados Unidos. (Blitzer et al., 2014)

Cerca de 20 estirpes de HPV são considerados de alto risco (Tabela 3) e são conhecidos por causar cancro do colo do útero, ânus, vagina, vulva, pénis, cabeça e pescoço. (Blitzer et al., 2014)

Com base em vários estudos, os resultados para o cancro da cabeça e pescoço relacionados com o HPV, mostraram que o tipo mais comum deste vírus, detetado na cavidade oral, é o HPV- 16. (Blitzer et al., 2014)

**Tabela 3 - Tipos de HPV de alto risco.** Adaptado de (Blitzer et al., 2014)

|                             |                                |
|-----------------------------|--------------------------------|
| ALTO RISCO                  | 16, 18, 31, 45                 |
| OUTROS DE ALTO RISCO        | 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59 |
| PROBABILIDADE DE ALTO RISCO | 26, 53, 66, 68, 73, 82         |

Embora vários tipos de HPV de alto risco tenham sido identificados, a infeção por HPV-16 e HPV-18 constituem o maior fator de causa para os cancros associados ao HPV. Desta forma, é importante referir que o HPV-16 e 18 são os tipos de HPV mais comuns e encontrados em cerca de 70% dos cancros do colo do útero. (Blitzer et al., 2014; Jemal et al., 2013)

#### **2.1.2.1. HPV-16**

Entre 18% e 72% dos carcinomas das células escamosas da orofaringe estão relacionados com HPV de alto risco, particularmente para o HPV-16, (Mirghani et al., 2014; Surgery & Surgery, 2014; Woods et al., 2014)

Ainda assim, desde 1983 que fortes evidências haviam colocado essa hipótese, mas só em 2009, a *International Agency for Research on Cancer* reconheceu o HPV- 16 com um agente causador do carcinoma das células escamosas da orofaringe. (Mirghani et al., 2014)

Atualmente, o HPV-16 continua a ser o único tipo de HPV a ser classificado como causador de cancro na cabeça e pescoço, e por isso, do carcinoma das células escamosas. (Zaravinos, 2014)

Em cerca de 50% dos câncros do pênis são encontrados DNA do HPV, HPV-16 na sua maioria. Ainda assim, HPV-16 e/ou HPV-18 é responsável por uma percentagem semelhante de câncros não genitais, tanto masculinos como femininos. (Blitzer et al., 2014)

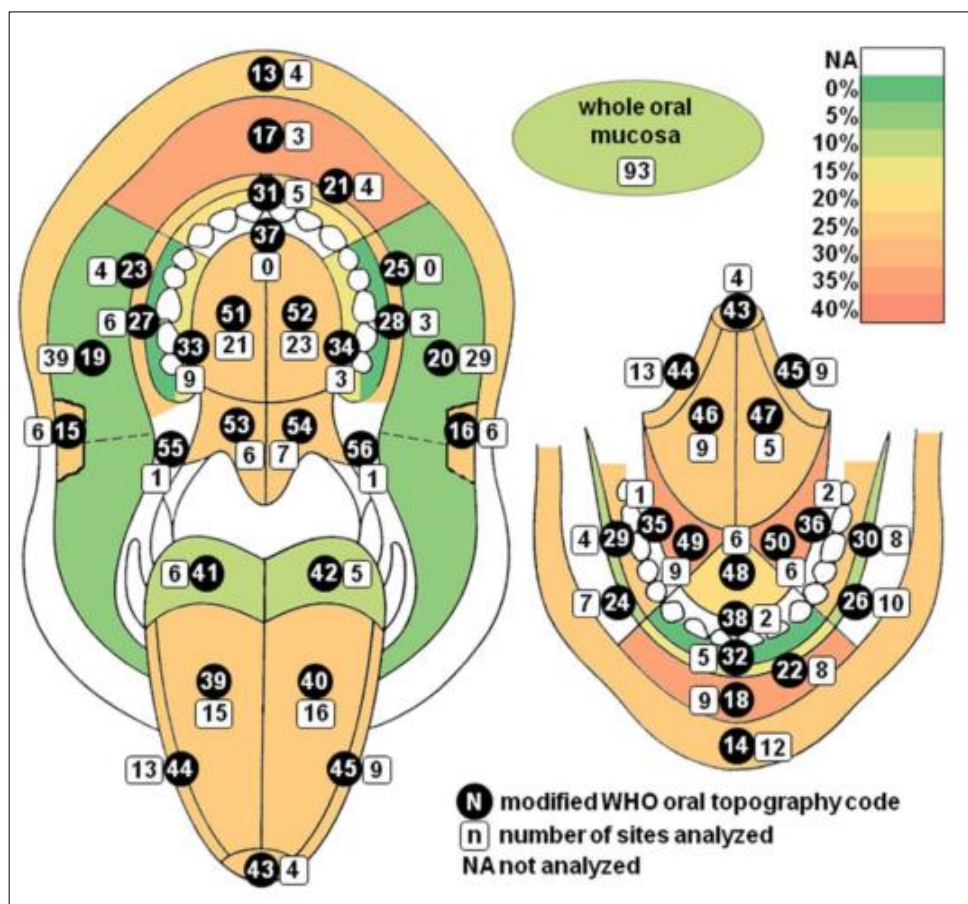
Já na orofaringe, o HPV-16 corresponde a mais de 90% de todos câncros associados aos HPV. (Blitzer et al., 2014)

## **2.2. Associação do HPV a lesões da cavidade oral e orofaringe**

Em 2007, o HPV foi reconhecido pela *Internacinal Agency for Research on Cancer* como carcinogénico e associado à transformação maligna, no que concerne ao cancro da cabeça e pescoço. (Field & Lechner, 2015)

As lesões provocadas pelo HPV podem ocorrer em qualquer parte da cavidade oral, dos lábios à garganta. Em alguns casos a distribuição do HPV (Figura 4), foi mais observada em sítios anatómicos específicos, em particular na comissura labial, bordos do lábio e palato duro, sendo também os locais mais frequentemente expostos a microtraumas, os que constituem pré-requisito para a transmissão da infeção. (Mravak-Stipetić, Sabol, Kranjčić, Knežević, & Grce, 2013)

Por sua vez, os papilomas, um tipo de tumor epitelial benigno, causam projeções na pele em forma de papilas ou verrugas e podem encontrar-se em quase toda a mucosa oral, sendo estes causados por infeção do HPV. Esta conclusão está em linha com a visão de que a infeção por HPV na cavidade oral encontra-se em várias localizações. (Mravak-Stipetić et al., 2013)



**Figura 4 – Frequência do HPV em diferentes regiões da mucosa oral.** Adaptado de (Mravak-Stipetić et al., 2013)

### 2.2.1. HPV associado a lesões benignas

Muitos dos HPV de baixo risco, e pouco provavelmente os de alto risco, são encontrados nas lesões benignas. (Feller et al., 2009)

As verrugas orais são consideradas lesões benignas, associadas ao HPV. Desta forma, destacamos as seguintes: a verruga vulgaris oral, condiloma acuminado oral, hiperplasia epitelial focal e papiloma das células escamosas orais. (Ural, Arslan, Ersöz, & Değer, n.d.)

Normalmente as características que são observadas nas verrugas orais devem-se ao facto de serem exofíticas; sésseis ou pedunculadas; filiforme ou semelhante a “couve-flor”. Variam consoantes o tipo e o local anatómico. Para além disso, podem ser lesões simples ou múltiplas, são geralmente indolores e crónicas, e por vezes desaparecem espontaneamente. (Feller et al., 2009)

Contudo, hiperplasia epitelial focal, papiloma escamoso oral, líquen plano oral, leucoplasia oral, carcinoma verrucoso oral e carcinoma escamoso oral devem ser considerados para diagnóstico diferencial aquando do aparecimento de uma lesão de verruga oral. (Ural et al., n.d.)

- **Verruga vulgaris oral**

A verruga comum ou vulgar é uma das lesões cutâneas mais comuns. É uma lesão benigna presente na pele e em membranas mucosas, causadas pelo HPV- 1, 2, 4, 7 e 53. As lesões são geralmente autolimitadas, mas podem variar em tamanho e número. No entanto, são raramente encontradas na língua (figuras 5 e 6). (Feller et al., 2009; Ural et al., n.d.)



**Figura 5- Verruga vulgaris oral, caso raro.** Adaptado de (Ural et al., n.d.)



**Figura 6- Verruga vulgaris no bordo da língua.** Adaptado de (Nagaraj, 2011)

- **Condiloma acuminado oral**

A incidência tem aumentado consideravelmente devido às mudanças no comportamento sexual, relacionado com a prática de sexo oral. Assim, estas verrugas que se encontram na zona da genitália, podem ser transmitidas através do sexo oral para a cavidade oral. Normalmente são provocadas pelo HPV- 2, 6, 11, e menos frequente o HPV -16, 18, 31, 33 e 3. É evidente a semelhança clínica e histológica entre o papiloma de células escamosas e verruga vulgar na cavidade oral. Frequentemente encontram-se na mucosa gengival, mucosa jugal, lábios e palato duro (Figuras 7 e 8). (Feller et al., 2009; Percinoto, Danelon, Crivelini, Cunha, & Percinoto, 2014)



**Figura 7- Condiloma acuminado na língua.** Adaptado de (Percinoto et al., 2014)



**Figura 8- Condiloma acuminado no palato duro.** Adaptado de (Percinoto et al., 2014)

- **Hiperplasia epitelial focal**

Inicialmente, foram Archard et al.1965, que descreveram elevações nodulares múltiplas da mucosa oral observada entre esquimós do Alaska e índios da América do Norte e Sul. (Filho, 2006)

A hiperplasia epitelial focal (HEF) é uma doença rara da mucosa oral, de curso benigno. Afeta a mucosa oral, lábio inferior, língua e mais raramente o palato. Assim, é causada pelo HPV-13 e HPV-32. É também conhecida como a doença de Heck. (Cubie, 2013; Feller et al., 2009)

Predominantemente encontrada em diferentes raças e em algumas comunidades africanas. (Leto, Santos Júnior, Porro, & Tomimori, 2011)

Clinicamente, apresenta múltiplas pápulas pequenas, de coloração rosa, individualizadas ou em placas (Figura 9). As lesões são assintomáticas e com tendência a regressão espontânea. (Leto et al., 2011)



**Figura 9- Hiperplasia epitelial focal.** Adaptado de (Leto et al., 2011)



- **Papiloma das células escamosas orais**

Podem ser encontrados na mucosa oral no palato mole, freio, lábio inferior e na úvula entre adultos (Figuras 10 e 11). (Feller et al., 2009; Ural et al., n.d.)

O papiloma das células escamosas orais está associado a uma prevalência de 13% a 68%, ao HPV de baixo risco, do tipo HPV- 6 e HPV- 11. (McCord et al., 2014)



**Figura 10 - Papiloma das células escamosas orais localizado na língua.**

Adaptado de (Sergipe, 2008)



**Figura 11 – Papiloma das células escamosas orais localizado no palato.**

Adaptado de (Sergipe, 2008)

### **2.2.2. HPV associado a lesões potencialmente pré-malignas e malignas**

O cancro da cavidade oral e da orofaringe pode assemelhar-se a uma úlcera, um nódulo, uma pequena ferida ou uma placa vermelha e/ou branca, que não têm relação com outras lesões anteriores e que não cura ou melhora, substancialmente, dentro de duas semanas. Assim, o resultado de várias alterações e modificações moleculares e bioquímicas no estroma subjacente fibrovascular pode resultar no carcinoma das células escamosas orais. Também alterações celulares, juntamente com as anteriormente referidas, podem provocar alterações clínicas que são observadas nos tecidos epiteliais,

constituindo assim inicialmente lesões pré-cancerígenas. Uma vez que há presença de alterações epiteliais, estas deverão ser diagnosticadas clinicamente. (Feller et al., 2009)

Em 2005, *The World Health Organization*, classificou as mudanças das lesões pré-cancerígenas em suave, moderada, severa ou carcinoma *in situ*. Atualmente, o risco de transformação maligna das lesões pré-cancerígenas é de 12.1%. (Feller et al., 2009)

Contudo, o potencial maligno das lesões orais não pode ser considerado isoladamente com as suas características clínicas, pelo que a avaliação histológica é essencial. Assim, amostras histológicas apenas poderão indicar o potencial maligno da lesão, o que não serve de preditor para mudanças malignas, pelo que a presença de displasia apenas indica se a lesão terá um elevado risco para a transformação maligna. (Feller et al., 2009)

Porém, também através de biomarcadores é possível identificar se uma lesão pré-maligna na mucosa oral poderá progredir para cancro, sendo que as primeiras alterações morfológicas detetáveis de cancro oral são o aparecimento das lesões pré-malignas, dos quais os mais comuns são leucoplasia e eritroplasia. No entanto, o processo de transformação maligna em células infetadas com os tipos de HPV oncogénicos não é completamente compreendido. (Feller et al., 2009)

A prevalência da presença de HPV numa mucosa oral normal é alta, cerca de 13.5%, contudo a sua presença única não é preditor de progressão maligna, o que remete para fatores adicionais na sua transformação maligna. (Gorsky & Epstein, 2011)

Lesões potencialmente malignas não alteram necessariamente a aparência clínica do tecido local, porém estão associadas a um maior risco de desenvolver uma lesão maligna nesse tecido. As lesões pré-malignas mais comuns, clinicamente, podem ser brancas, vermelhas ou com mudanças entre branco e vermelho, tais como leucoplasia e eritroplasia, nas quais a probabilidade de cancro oral é maior. Porém, pode ainda ser encontrado líquen plano, fibrose submucosa ou eritroleucoplasia. Não menos importante, é de referir como lesão maligna o carcinoma das células escamosas. (Feller et al., 2009)

- **Leucoplasia**

A maioria das leucoplasias consiste numa mancha branca ou cinzenta, não destacável, no entanto algumas podem conter alterações pré-cancerígenas que podem eventualmente evoluir para cancro, se não tratada adequadamente (Figura 12). (Feller et al., 2009; Medina et al., 2010)

Ainda assim, estas lesões pré-malignas podem evoluir e tornarem-se malignas se forem provocadas pela infeção do HPV de alto risco, HPV -16, 18, e 33, ou até do HPV- 6. (Feller et al., 2009)

Contudo, entre várias causas, as mais frequentes podem ser o consumo de tabaco, próteses mal adaptadas, ou até não ter causa óbvia. Normalmente, se o fator etiológico for removido, a lesão também regride. (Feller et al., 2009; Medina et al., 2010)



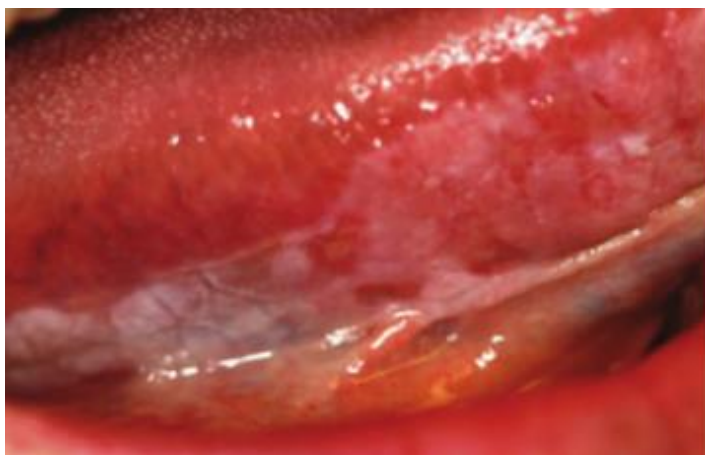
**Figura 12- Leucoplasia.** Adaptado de (Medina et al., 2010)

- **Eritroplasia**

Qualquer lesão da mucosa oral que apresente placas vermelhas brilhantes e aveludadas, numa área plana ou ligeiramente levantada e que, muitas vezes, sangra facilmente ao ser raspada. Pode eventualmente aparecer com manchas brancas que representam focos de queratose. Geralmente aparece em qualquer área da cavidade oral e carece de alguma atenção pois constitui um grande risco de transformação maligna. Contudo, embora pouco frequente, é a lesão pré-cancerígena com maior caráter de progressão maligna (Figura 13). (Messadi, 2013)

Eritroplasia e eritroleucoplasia (com as áreas vermelhas e brancas) são menos comuns que a leucoplasia, mas são geralmente mais graves. A maioria destas lesões vermelhas podem vir a desenvolver cancro, pelo que é importante biopsar. Assim, se a lesão for provocada por infeção do HPV há que ter em consideração o HPV- 6,11, 18, 31 e 33. (Feller et al., 2009)

No entanto, é importante notar que a maioria dos cancros orais não se desenvolvem a partir de lesões pré-existentes, como eritroplasia ou eritroleucoplasia. (Feller et al., 2009)



**Figura 13- Eritroplasia.** Adaptado de (Messadi, 2013)

- **Líquen Plano Oral**

Considerado pelo *World Health Organization* uma lesão pré-maligna, é uma inflamação cr nica da mucosa oral, sem etiologia conhecida. Tipicamente encontra-se simétrica e bilateral, com estrias brancas, placas ou pápulas brancas, sendo encontrada predominantemente na mucosa oral, gengiva e dorso da língua, embora outros sítios possam ser ocasionalmente envolvidos (Figura 14). (Messadi, 2013)

O líquen plano oral ocorre em cerca de 2% a 3% da população e pode ser constituído como uma lesão potencialmente maligna quando associado ao HPV, podendo despoletar o carcinoma das células escamosas. (Gorsky & Epstein, 2011; Ural et al., n.d.)

Estudos sugerem a presença de HPV de alto risco, tais como HPV-16 e HPV-18, o que sustenta a possibilidade de risco para displasia ou cancro. Desta forma, é importante referir que o potencial maligno das lesões provocadas poderão estar

associadas ao vírus e não necessariamente ao consumo de tabaco e álcool. (Gorsky & Epstein, 2011)

Para além dos subtipos de alto risco do HPV, que induzem a um aumento de risco na progressão para carcinoma das células escamosas orais, também a instabilidade genética foi encontrada nas lesões provocadas pelo líquen plano ativo, o que poderá aumentar o risco de transformação maligna de líquen plano. (Gorsky & Epstein, 2011)



**Figura 14 - Líquen plano nos lábios e mucosa jugal.** Adaptado de (Do Canto, Müller, De Freitas, & Da Silva Santos, 2010)

- **Fibrose submucosa oral**

É uma lesão crónica e debilitante, com características inflamatórias e formação de uma fibrose progressiva dos tecidos submucosos, provocando rigidez e incapacidade para abrir a boca (Figura 15). A mucosa oral é o local mais frequente, mas qualquer parte da cavidade oral pode estar envolvida, mesmo a faringe. (Messadi, 2013)

A patogênese da fibrose submucosa oral não está bem estabelecida, contudo acredita-se ser multifatorial. A lesão começa com uma reação inflamatória na mucosa oral, intercaladas com cicatrização e fibrose, terminando em trismo. (Messadi, 2013)



**Figura 15 – Fibrose submucosa oral.** Adaptado de (Yazdanpanah et al., 2009)

- **Carcinoma espinocelular**

Também conhecido como carcinoma das células escamosas, é considerado uma neoplasia maligna e, como referido anteriormente, corresponde à maioria dos cancros encontrados na cavidade oral e na orofaringe. O seu aspeto clínico varia entre um tumor nodular a uma úlcera crónica que não cicatriza, com massa exofítica ou endofítica, com crescimento lento e indolor. (Gonsalves, Chi, & Neville, 2007)

Na cavidade oral, encontra-se frequentemente na língua (Figura 16) e no fundo do vestíbulo (Figura 17). (Gaetti-jardim, Costa, Pereira, Pozzi, & Guastaldi, 2010)

Por sua vez, o carcinoma espinocelular da orofaringe compreende uma região que inclui a base da língua (a parte de trás da língua), o palato mole, as amígdalas e as paredes laterais e posteriores da orofaringe. (Dalianis, 2014)



**Figura 16- Carcinoma espinocelular no ventre lateral da língua, cavidade oral.**

Adaptado de (Gonsalves et al., 2007)



**Figura 17- Carcinoma espinocelular no fundo do vestibulo, cavidade oral.**

Adaptado de (Gaetti-jardim et al., 2010)



### **2.3. Carcinoma das células escamosas da cabeça e pescoço relacionado com**

#### **HPV+ vs HPV –**

Nos últimos anos, o HPV tem demonstrado ser o maior fator de risco para o carcinoma das células escamosas da cabeça e pescoço, mais concretamente do carcinoma das células escamosas da orofaringe. (Field & Lechner, 2015)

Cerca de 80-90% dos cancros da cabeça e pescoço têm sido relacionados com fatores de risco já conhecidos, tais como hábitos tabágicos e consumo cr nico de  lcool. No entanto, nas duas últimas décadas temos vindo a assistir a uma diminuição dos carcinomas das células escamosas da cabeça e pescoço relacionados com a diminuição dos hábitos tabágicos, mas não a uma diminuição dos carcinomas das células escamosas da cabeça e pescoço, relacionada com a infeção pelo Papiloma Vírus Humano, tal como mostra um estudo de 2014 de R.Woods, que refere que de 1988 a 2004 houve um aumento exponencial destas infeções positivas para o HPV, cerca de 225%, comparativamente à diminuição de 50% relacionado com o HPV negativo. (Marklund & Hammarstedt, 2011; Woods et al., 2014)

Desta forma, nestes locais podem ser encontradas lesões causadas pela infeção do vírus, que variam consoante o subtipo de HPV, em lesão oral benigna, lesão oral maligna, cancro da cabeça e pescoço e ainda em carcinoma da orofaringe, língua ou amígdala. (Marklund & Hammarstedt, 2011)

Embora o HPV seja agora reconhecido como um agente causador de um subconjunto de carcinomas das células escamosas da orofaringe, a biologia e história natural da infeção da orofaringe por este vírus ainda não é bem compreendida, nem como a atuação clínica que indivíduos com esta infeção possam necessitar. (Marur et al., 2010)

Contudo, para  l m dos fatores de risco já referidos, segundo estudos realizados entre os dois tipos de carcinomas das células escamosas da cabeça e pescoço, comprovou-se que estas lesões relacionadas com o HPV aparecem em indivíduos com idades inferiores a 50 anos e não fumadores, enquanto que, no outro caso, os indivíduos tendem a ser mais velhos, pelo que   possível deduzir que hábitos tabágicos e consumo de álcool são fatores que foram adotados ao longo da vida e as lesões despoletadas anos mais tarde provocando lesões não relacionadas com o HPV.(Field & Lechner, 2015)



Para além disso, é importante referir que existem diferenças nos perfis de expressão dos genes no carcinoma das células escamosas da orofaringe, quando comparados com lesões causadas pelo vírus HPV e outras causas. Desta forma, HPV positivo e HPV negativo são clínica e biologicamente distintos (Tabela 4). (Anayannis, Schlecht, & Belbin, 2015)

Também a proteína p53, que ativa enzimas de reparação do DNA quando este encontra-se com danos no ciclo celular entre a fase G1 e a fase S, é encontrada com diferenças nos dois casos. Assim é frequente a mutação no gene p53 nas lesões por HPV negativo, o que não acontece nas lesões por HPV positivo, o que explica um melhor prognóstico dos doentes com HPV positivo comparativamente a doentes com HPV negativo, já que pensa-se que seja devido à resposta do mediador apoptótico p53 aos tratamentos oncológicos ou a fatores imunológicos relacionados com a infeção do HPV. (Marklund & Hammarstedt, 2011)

Para além disso, o carcinoma das células escamosas da cabeça e pescoço, induzido pelo HPV, está associado a uma maior sobrevida comparativamente ao outro e a melhores resultados à terapêutica, através de uma melhor resposta à quimioterapia e radiação. (Anayannis et al., 2015; Marur et al., 2010)

A biologia do cancro da orofaringe pode ser distinta. Assim, quando relacionada com o HPV ocorre a degradação da proteína p53, inativação da via do retinoblastoma (Rb) e regulação positiva do P16. Por outro lado, este cancro relacionado com o tabaco é caracterizado pela mutação do p53 e inativação do CDKN2A, supressor de tumor na regulação do ciclo celular. (Marur et al., 2010)

O Papiloma Vírus Humano, nomeadamente HPV-16, é agora reconhecido como um fator importante no aparecimento do carcinoma das células escamosas da orofaringe, com diferentes características clínicas, biológicas, epidemiológicas, radiológicas, comportamentais e prognóstico, em relação ao HPV negativo. (Surgery & Surgery, 2014)

**Tabela 4 – Cancro da cabeça e pescoço HPV+ vs HPV-.** Adaptado de (Westra, 2009)

|                             | HPV-positive                    | HPV-negative                 |
|-----------------------------|---------------------------------|------------------------------|
| Incidence                   | Increasing                      | Decreasing                   |
| Age                         | Younger                         | Older                        |
| Gender                      | 3:1 men                         | 3:1 men                      |
| Risk factors                | Sexual behavior                 | Tobacco,<br>alcohol          |
| Cofactors                   | Marijuana,<br>immunosuppression | Diet, oral hygiene           |
| Molecular genetics findings | P16 ↑<br>Rb ↓<br>P53 wild-type  | P16 ↓<br>Rb ↑<br>P53 mutated |
| Anatomic site               | Lingual and palatine tonsils    | All sites                    |
| Pathologic findings         |                                 |                              |
| Primary                     | Basaloid                        | Keratinized                  |
| Lymph node metastasis       | Cystic                          | Solid                        |
| Survival                    | Better                          | Worse                        |

#### 2.4. Vias de transmissão do HPV

A infecção pelo HPV pode ser passada de pessoa para pessoa através do contato da pele ou contato direto da mucosa. Mas o HPV é principalmente transmitido via sexual, o qual se inclui sexo vaginal, anal e ainda o sexo oral.(Zaravinos, 2014)

Estima-se que dois terços das pessoas que tiveram contato sexual com pessoas infectadas pelo HPV serão infectadas. (Woods et al., 2014)

As características da infecção pelo HPV de baixo risco variam significativamente entre indivíduos, pois também é necessário ter em conta os diversos tipos de HPV que podem provocar a infecção. Desta forma, indivíduos com HPV oral, genital ou anal, poderão deixar passar despercebida a infecção do vírus, uma vez que esta poderá ser assintomática, e até mesmo erradicada com sucesso pelo sistema imunológico, em poucos meses, mas mesmo assim transmitir a infecção enquanto esta não for erradicada. (Blitzer et al., 2014)

Porém o comportamento sexual de alto risco e a exposição à infecção pelo HPV pode levar ao aparecimento de inúmeras lesões que podem aumentar o risco de outros cânceros, induzidos pelo HPV. (Thiers, 2008)

#### **2.4.1. Infecção genital**

A infecção pelo HPV já é conhecida por provocar o cancro do colo do útero. A sua presença na região genital da mulher pode levar a novas infecções de HPV associadas a outros sítios. Assim, o HPV do colo do útero pode estar associado à cavidade oral e não sere independente. Por conseguinte, a infecção do colo do útero pode ser considerada um fator de risco para a infecção do HPV na cavidade oral. Isto deve-se às mudanças na prática sexual, que levaram a um aumento das taxas de infecção oral. Ainda assim, é importante referir que também os homens podem ser infetados com o vírus na região genital, quer através de mulheres com cancro no colo do útero, quer através de sexo oral ou sexo anal. (Woods et al., 2014)

#### **2.4.2. Infecção oral**

Estudos têm demonstrado aumento da aquisição do HPV em torno de iniciação sexual com prevalência de HPV oral de 1,5% entre os 12-15 anos de idade, 3,3% entre os 16-20 anos de idade e 4,5% -6,9% em adultos saudáveis. (Woods et al., 2014)

A infecção oral pelo HPV pode ser adquirida por contato oral-genital, por contacto boca-a-boca ou, eventualmente, por autoinoculação. Não é claro como ocorre a infecção pelo HPV no trato respiratório superior, mas pensa-se ser pelo transporte de células epiteliais infetadas pelo vírus presente na cavidade oral, ou a partir da boca de outra pessoa para a orofaringe e laringe. (Feller et al., 2009)

- **Contato oral- genital**

A infecção por HPV associada ao colo do útero e à cavidade oral podem não ser independentes, por conseguinte a infecção pelo HPV do colo do útero pode ser considerada um fator de risco para a infecção na cavidade oral. (Woods et al., 2014)

Vários estudos têm demonstrado que os indivíduos com um maior número de parceiros sexuais orais estão mais propensos a ter infecção oral prevalente por HPV, bem

como também cancro da cabeça e pescoço associado. (Fakhry & D'Souza, 2013; Thiers, 2008)

Desta forma, é facilmente sugerido que o HPV possa ser transmitido através do sexo oral. No entanto, é importante compreender que a transmissão podem advir apenas da prática sexual, bem como também, pode estar relacionada com o número de parceiros, o que proporciona a propagação do vírus. Portanto, é difícil determinar quais os comportamentos especificamente responsáveis pela presença do HPV na boca e/ou na orofaringe. (Fakhry & D'Souza, 2013)

- **Contato oral- anal**

É comum a infecção por HPV no ânus através da transmissão por contacto sexual oral-anal, conhecido como “*rimming*”. Um estudo com homens gays mostrou que um aumento do número de parceiros que praticam “*rimming*” está associado à prevalência de HPV na cavidade oral. No entanto, são necessárias mais pesquisas para elucidar conclusivamente o papel de “*rimming*” na transmissão de HPV na cavidade oral. (Fakhry & D'Souza, 2013)

- **Contato oral-oral**

Não há certezas se o beijo na boca (“beijo francês”) pode transmitir a infecção por HPV na cavidade oral. Três estudos relataram uma associação entre beijos de boca aberta e prevalência de HPV na cavidade oral, mesmo entre indivíduos que relataram nunca ter realizado sexo oral. No entanto, estes estudos foram limitados pelo pequeno tamanho das amostras. (Fakhry & D'Souza, 2013)

## **2.5. Diagnóstico dos cancros oral e da orofaringe**

O carcinoma espinocelular é a neoplasia maligna mais comum de cavidade oral e estruturas adjacentes. Apresenta maior incidência após a quarta década de vida, e tem como principais fatores etiológicos o uso crônico de tabaco e álcool, exposição prolongada à radiação ultravioleta (no lábio), infecções virais, principalmente por Papiloma Vírus Humano, deficiências nutricionais e hereditariedade. Representa aproximadamente 90% das neoplasias malignas da boca e cerca de 38% dos tumores de cabeça e pescoço. Cerca de 75% dos casos de carcinoma espinocelular ocorrem na faixa

etária dos 40 anos, com um pico aos 60 anos de idade, com predomínio do gênero masculino numa relação de 2:1. (Messadi, 2013)

Contudo, estudos recentes sugerem que o cancro da cabeça e pescoço, particularmente o cancro da língua, está a aumentar nos jovens adultos. (Messadi, 2013)

A incidência do cancro oral tem vindo a aumentar nas últimas décadas, porém continua a ser detetado em estádios tardios, o que é preocupante sendo esta uma das doenças com altas taxas de mortalidade e morbilidade. Desta forma, continua a ser detetado apenas quando sintomático ou em tamanho avançado devido ao desconforto proporcionado. (Messadi, 2013)

Por este facto, é necessário investir no conhecimento e educação por parte dos profissionais de saúde, especialmente dos Médicos Dentistas, que têm o dever de analisar toda a cavidade oral e assim saber identificar e intervir na deteção de cancro oral, ainda numa fase inicial. Desta forma, esta pode ser a chave para evitar a progressão para fases posteriores, a fim de melhorar o diagnóstico precoce para o cancro oral, conhecer os fatores de risco e as condições pré-malignas orais mais comuns. (Messadi, 2013)

Assim, o diagnóstico precoce continua a ser o principal fator determinante para o tratamento atempado do cancro oral e orofaringe. Embora nem sempre esta meta seja alcançada, torna-se imprescindível a atuação de uma equipa multidisciplinar no tratamento. (Daniel, Granato, Grando, & Fabro, 2006)

### **2.5.1. Biópsias e amostras de saliva**

Para podermos avaliar uma lesão através dos métodos de deteção do DNA do HPV, é necessária uma amostra de tecido para confirmar que o cancro encontra-se realmente presente antes do tratamento ser iniciado. (Chai et al., 2015)

No entanto, o Papiloma Vírus Humano poderá ser encontrado em mucosas orais sem aparência de lesão e sem sintomatologia, por este motivo pode estar presente nas biópsias efetuadas em bocas com aspeto saudável. (Messadi, 2013)

Por este motivo, as biópsias de tecido, para avaliação histológica, necessitam de um profissional de saúde treinado, para proceder à execução da recolha de tecido,

aquando da consulta. Para além disso, também é necessário a colaboração com um histopatologista experiente, para que a biópsia possa ser corretamente analisada. (Chai et al., 2015)

Mesmo assim, a maioria dos métodos de diagnóstico atuais são concebidos para tecidos de tumor excisados, obtidos no momento da consulta. Podem ainda ser utilizados vários tipos de biópsias, dependendo de cada caso. (Chai et al., 2015)

Para além disso, também a saliva apresenta uma alternativa não invasiva promissora para a deteção de DNA de HPV oncogénico. (Blitzer et al., 2014)

### **2.5.2. Métodos de deteção do DNA do HPV**

Existe uma grande variedade de métodos para diagnosticar o DNA, no entanto, estes fornecem informações diferentes e têm a sua própria limitação (Tabela 5). Assim, as técnicas mais utilizadas incluem a deteção do DNA viral por reação de polimerização em cadeia (PCR), hibridização *in situ*, *southern blot* e ainda por imunohistoquímica. Porém, não há consenso quanto ao tipo de testes que são necessários para identificar com segurança tumores relacionados com o HPV de alto risco. (Mirghani et al., 2014)

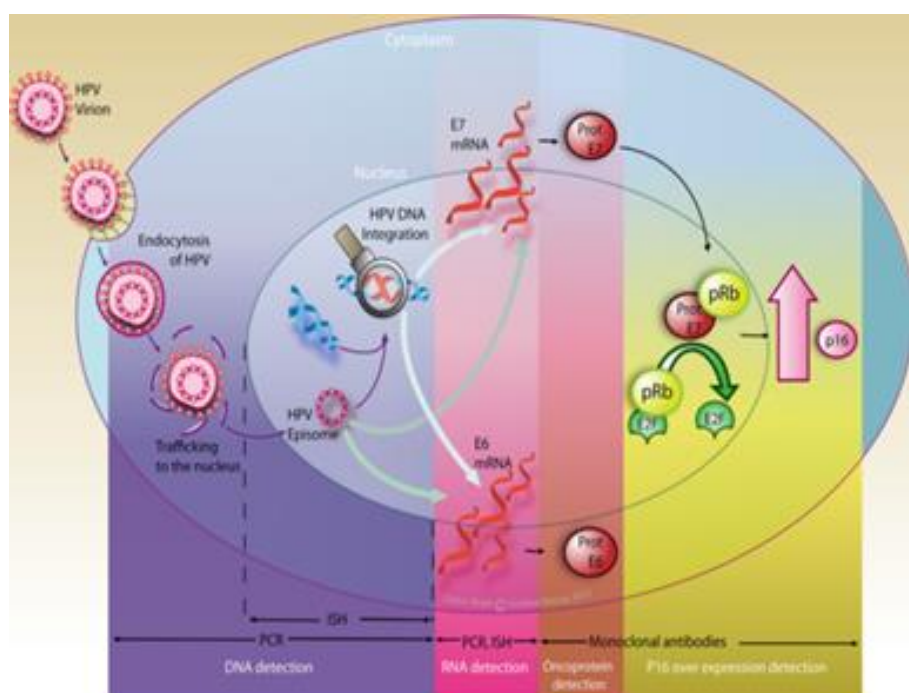
Assim, recentemente, os últimos desenvolvimentos para os teste de detenção do DNA do HPV são relatados como o teste de HPV RNAscope™ (teste RNA hibridização *in situ*), que deteta o mRNA de E6/E7 de sete HPVs de alto risco, estando já incluído no quadro de técnicas existentes. (Mirghani et al., 2014; Schache et al., 2013)

Porém, os testes de deteção de HPV não devem ser considerados isoladamente, pois há interações importantes com outros parâmetros, tais como a exposição ao tabaco. Este é um campo importante e em rápida evolução e é provável que se torne fundamental para o estágio e escolha do tratamento do carcinoma da orofaringe num futuro próximo. (Mirghani et al., 2014)

Embora o melhor método de detenção da infeção continue a não estar claramente definido, hoje é possível escolher de uma variada lista de métodos para a deteção da presença do HPV (Figura 18). (Boscolo-Rizzo et al., 2013)

**Tabela 5- Métodos laboratoriais para testar HPV em doentes com cancro.** Adaptado de (Blitzer et al., 2014)

| TESTE          | CONSIDERAÇÕES   |
|----------------|---|
| <b>P16 IHC</b> | Frequentemente realizados em laboratórios clínicos;<br>Alta correlação com o resultado. O p16 pode aparecer em número elevado nos casos de HPV-;        |
| <b>ISH</b>     | Alta especificidade;<br>Pode ser usado em amostras embebidas em parafina;<br>Baixa sensibilidade em amostras com poucas cópias de genoma de HPV;        |
| <b>PCR</b>     | Alta especificidade;<br>Mas pode levar a resultados falsos-positivos;   |
| <b>RT-PCR</b>  | Sensibilidade e especificidade, pois deteta infeção ativa de HPV;<br>Necessita de RNA intacto;<br>Melhores resultados em amostras frescas ou congeladas |



**Figura 18- Correlação entre o estágio da infecção do HPV e os métodos de detecção.** Adaptado de (Mirghani et al., 2014)

### **2.5.2.1. Southern blot**

Um dos mais antigos testes de detecção do DNA do HPV é o *Southern blot*, que embora continua a ser utilizado e é caracterizado por dar poucos falsos-positivos, ter alta sensibilidade e identificar subtipos de HPV específicos. (Mirghani et al., 2014)

Este método utiliza sondas específicas para os subtipos de HPV, que hibridizam todo o DNA celular de forma a identificar subtipos de HPV específicos nas lesões. No entanto, requer tempo intensivo e necessita de grandes quantidades de DNA celular, tornando-os inadequados para uso clínico de rotina. (Mirghani et al., 2014)

### **2.5.2.2. Hibridização *in situ***

Muitas vezes usado nos laboratórios de diagnóstico para detetar subtipos de HPV no DNA. Contudo, possui especificidade mais baixa que o teste de *Southern blot*, tanto em amostras fixas ou em amostras embebidas em parafina, com muito pouco processamento adicional. (Blitzer et al., 2014)

Consiste num método de amplificação de sinal com base em sondas marcadas que ligam-se especificamente a uma sequência ou a um tipo específico de DNA de HPV de alto risco. Ou seja, permite a identificação direta das células tumorais com DNA de HPV e pode ser usado para a estimativa grosseira do número de cópias de genoma viral, o que permite identificar subtipos de HPV específicos, caso a amostra para biópsia seja suficiente para os testes. (Blitzer et al., 2014; Mirghani et al., 2014)

Por conseguinte, a interpretação é visual e o vírus é diretamente localizado dentro do tumor, o que permite a identificação de células infetadas. (Mirghani et al., 2014)

Os conjuntos de sondas mais utilizados são três: identificam unicamente HPV-16 e HPV-18 (Genpoint™, Dako Carpinteria, CA); HPVs de alto risco mais frequentes como HPV-16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, e 68 (Genpoint™ HPV DNA Probes Cocktail, Dako Carpinteria, CA); HPV-16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 e 66 (Inform HPV-III probe cocktail, Ventana Medical systems, Tucson, AZ). Por sua vez, apenas as *probe cocktail* da Dako e da Ventana Medical Systems são aprovados para uso de diagnóstico *in vitro* na Europa e têm a marcação UE. (Mirghani et al., 2014)



Embora sejam simples e acessíveis na maioria dos laboratórios, existem vários inconvenientes. A falta de sensibilidade continua a ser um dos seus principais pontos de fraqueza e os seus resultados negativos não devem ser aceites como uma amostra negativa de HPV. (Mirghani et al., 2014)

Contudo, existe uma vantagem do ISH sobre o método de PCR, havendo elevada especificidade devido à sua deteção fiável e identificação de HPV, na relação topográfica com as suas lesões patológicas. (Chai et al., 2015)

### **2.5.2.3. Biomarcador- p16**

São elementos necessários para o correto funcionamento do corpo, tais como zinco, cálcio, etc. São considerados essenciais para o diagnóstico e prognóstico de tumores, consoante a sua falta ou excesso no organismo. São importantes para que os médicos elaborem tratamentos individuais para cada caso, uma vez que são capazes de demonstrar a malignidade, ou a potencial malignidade, bem como prever o comportamento do tumor, o prognóstico e a resposta ao tratamento, evitando tratamentos desnecessários. (Silva, Soave, Ribeiro-Silva, & Poletti, 2012)

Contudo, entre os biomarcadores, o mais popular é a sobre expressão da proteína p16INK4a (avaliada por imunohistoquímica; IHC), que tem sido apontado como um biomarcador substituto adequado. (Boscolo-Rizzo et al., 2013)

Assim, em vários estudos, uma forte correlação foi encontrada entre o HPV e a proteína p16, pelo que a sua excessiva expressão, como consequência da transcrição do oncogene viral E7, foi tomada como biomarcador para o carcinoma das células escamosas da cabeça e pescoço, induzidas pelo HPV. (Woods et al., 2014)

No entanto, a proteína p16 não só atua como um biomarcador para o HPV, com 46%-98% nos carcinomas das células escamosas da orofaringe com positividade para o HPV, como também mostrou relação em 3%-51% com o carcinoma das células escamosas da cabeça e pescoço, quando não deriva do HPV. Desta forma, também é de referir a expressão de p16 em tecidos saudáveis da amígdala, o que indica que este pode atuar como um indicador independente do HPV que, por sua vez, explica por que motivo nem todos os estudos concordam sobre o efeito específico da proteína p16 como biomarcador. (Woods et al., 2014)

Por este motivo, o aumento da expressão de p16, é considerado um marcador indireto da infecção do HPV e é também considerado por muitos oncologistas de cabeça e pescoço o marcador mais importante para a estratificação dos doentes. (Mirghani et al., 2014)

O biomarcador p16 regula, negativamente, a proliferação de células, suprimindo a proteína pRb funcional. No entanto, pode acontecer a perda de inativação de p16 por deleção homozigótica do gene ou por mutação, o que tem sido demonstrado numa ampla variedade de tumores, incluindo 54-82% do carcinoma das células escamosas da cabeça e pescoço. (Mirghani et al., 2014)

P16 é um inibidor da ciclina quinase dependente (CDK) e é codificado pelo gene CDKN2A, que é um supressor de tumor na regulação do ciclo, na fase G1. (Boscolo-Rizzo et al., 2013)

A inativação de pRb, determinado pelo E7, é associada com a regulação de CDKN2A e, conseqüentemente, com a sobre expressão da proteína p16. No seu estado basal a proteína Rb (pRb) liga-se ao E2F e reprime fatores de transcrição, (Figura 19). (Boscolo-Rizzo et al., 2013)

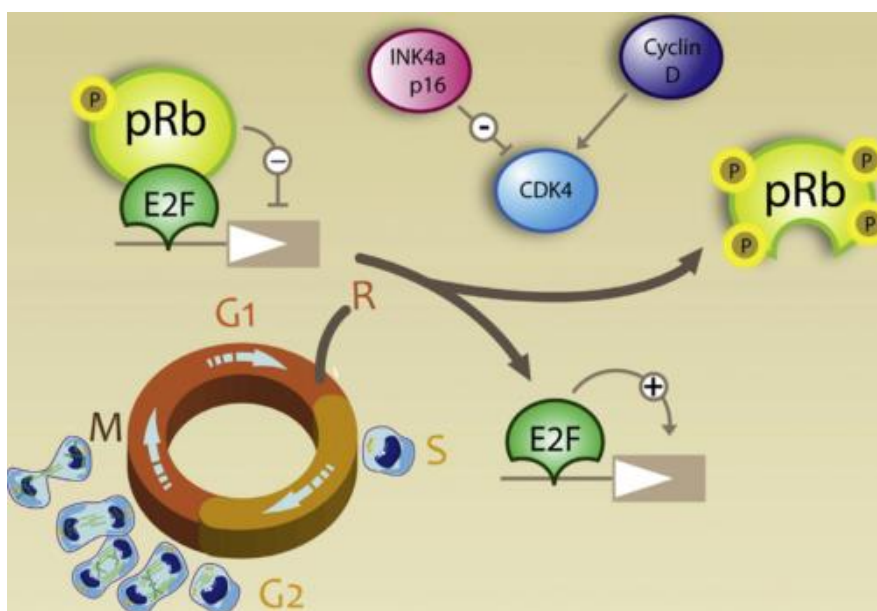


Figura 19- Mecanismo do p16. Adaptado de (Mirghani et al., 2014)

Por conseguinte, a transcrição dos genes necessários para passar o ponto de restrição de G1 para S é bloqueada. Para ser ativada, E2F tem de se libertar da proteína Rb. No entanto, este passo requer a fosforilação de pRb pelo complexo ciclina D -

CDK4 / CDK6, mas a sobre expressão de p16 não permite, pois encontra-se a inibir a ciclina quinase dependente (CDK4). Assim, o sistema de *feed-back* negativo é regulado pelo p16, e irá impedir a fosforilação da proteína Rb, bem como a consequente proliferação de células mutadas pelo HPV. (Mirghani et al., 2014)

#### 2.5.2.4. Imunohistoquímica da p16

É uma técnica altamente sensível, mas tem sido criticada por falta de especificidade para o HPV. A sua sensibilidade varia entre 94-100% e sua especificidade entre 79-82%, quando comparado com o E6/E7 mRNA, pelo HPV RNAscope™. (Mirghani et al., 2014)

Ainda assim, é importante referir que são muitos os laboratórios que utilizam como teste *gold standard*, a detecção do inibidor 2A da ciclina quinase dependente (também conhecida como p16 ou p16INK4a), por imunohistoquímica, tanto para ensaios clínicos, como para detecção do HPV. (Mirghani et al., 2014)

Embora o biomarcador p16 tenha significado no prognóstico, mesmo na ausência de positividade coincidente com o HPV, a causa da sobre expressão de p16 nestes casos permanece sem resposta. No entanto, outras causas podem incluir uma infecção viral alternativa ou de outra etiologia. (Blitzer et al., 2014)

#### 2.5.2.5. Reação de polimerização em cadeia

PCR e *reverse transcriptase*-PCR (RT-PCR) são outros métodos com alta sensibilidade para a detecção do DNA e/ou RNA do HPV, com pequenas quantidades de amostras de tumores. (Blitzer et al., 2014)

Contudo, podem levar facilmente a falsos-positivos devido à sua alta sensibilidade para o genoma do HPV, que podem estar presentes em tecidos orais, mas que não estão relacionadas com a malignidade. (Blitzer et al., 2014)

Para além disso, o PCR baseado no mRNA do HPV (RT- PCR), que utiliza amostras congeladas, foi também considerado *gold standard* por alguns laboratórios, para o diagnóstico da infecção por HPV oncológicamente relevante. Infelizmente, este método é pouco provável que seja viável num laboratório de anatomia patológica e, atualmente, não permite a sua vasta aplicação em estudos moleculares retrospectivos,

sobre o material histológico de arquivo, porque requer mRNA de boa qualidade e é geralmente extraído de materiais armazenadas a -80 ° C. (Boscolo-Rizzo et al., 2013)

Ainda assim, estes testes baseados no PCR podem ser concebidos para detetar os tipos de HPV de alto risco mais comuns e serem integrados com os kits comercialmente disponíveis, para identificar o tipo de HPV específico presente numa amostra. (Blitzer et al., 2014)

#### **2.5.2.6. A combinação de estratégias de testes na prática clínica**

Nenhum dos métodos acima mencionados oferece níveis de sensibilidade e especificidade ótimas. Por este motivo, devem ser considerados métodos que combinem diferentes testes de HPV, como uma estratégia para compensar as limitações dos ensaios individuais. (Mirghani et al., 2014)

Desta forma, a utilização de vários testes pode abranger o teste do biomarcador p16, em que apenas os doentes positivos para o biomarcador p16 são submetidos a futuras investigações com um método de deteção mais específico para HPV de alto risco. Contudo, quando amostras são negativas para o teste de biomarcador p16, estes são considerados negativos para o HPV. (Mirghani et al., 2014)

Foi então que, como forma de combinar estratégias, Smeets et al. no seu estudo descreveu que num primeiro passo o teste p16-IHC deveria ser seguido pelo teste de PCR para deteção do DNA de alto risco, e o segundo passo, proposto por Singhi et al., era baseado no tipo HPV-16 específico do teste de hibridização *in situ*. Assim, no caso deste último dar resultado negativo, seria realizado hibridização *in situ* de amplo espectro. (Mirghani et al., 2014)

Desta forma, a correlação entre estes testes e o *gold standard* E6/E7 mRNA (HPV RNAscope), seria elevada, pelo que Smeets et al. veio mostrar que amostras positivas para o teste de biomarcador p16 e para testes de DNA de alto risco, deveriam conter sempre a transcrição do E6/E7 mRNA. (Mirghani et al., 2014)

#### **2.5.2.7. Avanços contemporâneos e novas perspetivas**

É extremamente importante que a comunidade de oncologia internacional da cabeça e pescoço consiga definir como concretos os métodos existentes para deteção e

diagnóstico do HPV, relacionados com o carcinoma das células escamosas da orofaringe, bem como também, é importante diferenciar os tratamentos necessários para os futuros doentes, consoante os resultados desses testes. Ainda assim, estes métodos de deteção devem ser concretos, tecnicamente viáveis e rentáveis para aplicação clínica generalizada. (Mirghani et al., 2014)

Recentemente, técnicas como *RNA scope*, foram consideradas em estudos como as mais promissoras, na qual devem ser comparadas e combinadas com outros testes que sejam defendidos por vários autores, na prática clínica. (Mirghani et al., 2014)

No entanto, hoje em dia, já é possível compreender melhor o comportamento do HPV como indutor de lesões e carcinomas, pelo que os métodos de deteção do HPV deverão ter em conta a heterogeneidade molecular deste grupo de lesões, especialmente entre os fumadores. (Mirghani et al., 2014)

## 2.6. Tratamento

Os efeitos da vacinação profilática contra o HPV permanecem obscuros, no entanto, a vacinação contra o HPV, apenas funciona como prevenção da sua infeção. Desta forma, é errado pensar-se que a vacinação após a infeção poderá extinguir o vírus. (Woods et al., 2014)

Quando há grande suspeita de uma neoplasia, devemos encaminhar o doente para um hospital ou, caso nos sentimos confortáveis, realizar uma biópsia sob anestesia local e enviar para anatomia patológica. Deve-se avaliar a extensão da lesão primária e avaliar a possibilidade de metástases à distância ou outros tumores primários. Assim, o diagnóstico do HPV na mucosa oral e na orofaringe pode ser realizado pelo exame clínico da lesão, citologia e/ou biópsia, porém são os exames de biologia molecular que são capazes de detetar o DNA do HPV. (Filho, 2006)

Após a confirmação do diagnóstico, os indivíduos infetados por HPV devem ser seguidos e tratados, de forma a extinguir as lesões, por radioterapia, quimioterapia, cirurgia ou terapia combinada. Tanto a cirurgia como radioterapia têm igual sucesso no controle de lesões T1 (menor ou igual a 2 cm) na cavidade oral. O tratamento deve ser escolhido de acordo com diversos fatores como o sítio da lesão, as condições gerais do paciente, condições socioeconómicas do paciente e a experiência da equipa médica.

Para além disso, pressupõe-se que estas lesões tenham melhores resultados no tratamento em comparação com as mesmas lesões não induzidas pelo vírus. (Zaravinos, 2014)

É um facto constatar que o carcinoma das células escamosas da cabeça e pescoço, induzido pelo HPV, responde melhor aos tratamentos de quimioterapia e radioterapia comparativamente aos casos negativos para o HPV, no entanto, há que ter em conta os fatores de risco que induzem as lesões provocadas, sendo que o mais preocupante é a idade jovem com que aparecem estas lesões, o que provoca alguma controvérsia em relação ao tratamento. (Chai et al., 2015)

Desta forma, o tratamento dos carcinomas das células escamosas induzido pelo Papiloma Vírus Humano requer de uma revisão urgente. Embora não haja evidências de estudos controlados e randomizados para apoiar uma diminuição da intensidade do tratamento em carcinomas de orofaringe HPV-positivos, alguns investigadores argumentam que regimes de quimioterapia e radioterapia concomitantes intensivos podem representar um tratamento excessivo. (Boscolo-Rizzo et al., 2013; Chai et al., 2015)

Na verdade, constitui uma estratégia agressiva e que pode resultar em taxas elevadas de toxicidade aguda e grave a longo prazo, o que não seria apropriado para estes doentes que podem ser mais jovens e consequentemente têm uma sobrevivência prolongada. Neste contexto, a maioria dos esforços são dirigidos para diminuir a intensidade de tratamento, com a intenção de reduzir a toxicidade e, assim, melhorar a qualidade e duração de vida, mantendo a eficácia. (Boscolo-Rizzo et al., 2013)

Apesar da intensificação do tratamento para estes indivíduos, com frações alternadas de radiação, ou mesmo com a adição de quimioterapia à radiação, os médicos e os doentes ainda enfrentam o desafio significativo de possíveis tumores recorrentes ou de novo surgimento dentro ou nas proximidades de tecidos previamente irradiados. (Zaravinos, 2014)

Por outro lado, a FDA aprovou o uso da cirurgia robótica trans-oral para cancros da orofaringe no estágio de categoria T1 e T2. Trata-se de um tratamento de cirurgia minimamente invasiva viável para uma fase inicial e pode ser realizada por microcirurgia oral a laser ou cirurgia robótica trans-oral. Para além disso, os benefícios

da cirurgia trans-oral incluem baixa morbidade e mortalidade e excelentes resultados funcionais. (Boscolo-Rizzo et al., 2013)

Assim, indivíduos com carcinoma das células escamosas da orofaringe provocado pelo HPV podem ser os candidatos ideais para a cirurgia trans-oral minimamente invasiva devido à sua idade mais jovem, à categoria T do carcinoma e sua sobrevivência a longo prazo. Os resultados preliminares mostraram que a cirurgia robótica trans-oral, como uma modalidade cirúrgica primária e seguida de terapia adjuvante, consegue controlar a doença em ambos os grupos de HPV. (Boscolo-Rizzo et al., 2013)

Contudo, estudos indicam que o atual tratamento desses pacientes não deve ser diferente do tratamento padrão de doentes com tumores HPV-negativos, tendo por base o estágio da doença e da condição geral do paciente. (Boscolo-Rizzo et al., 2013)

## **2.7. Prognóstico**

Como já vimos as lesões do carcinoma das células escamosas da orofaringe podem ter diversas causas. A vantagem no prognóstico das lesões causadas pelo HPV no carcinoma das células escamosas da orofaringe poderá ser, em parte, devido às características que as distinguem das mesmas lesões causadas pelo tabaco e álcool. (Chai et al., 2015)

Assim, idade mais jovem, fraco consumo de tabaco e estatuto socioeconómico elevado poderão ser fatores que contribuem para um melhor prognóstico. (Chai et al., 2015)

Embora alguns estudos continuem sem conseguir explicar a melhoria no prognóstico, estes persistem indicando que existem diferenças biológicas entre as lesões HPV positivas e HPV negativas, o que de certa forma permanece à espera de ser aprofundado. (Chai et al., 2015)

No entanto, sabe-se que a proteína p53 que atua no ciclo celular, na fase G1, e que impede a replicação do DNA com danos, encontra-se com mutação nas lesões por HPV negativo, o que não acontece nas lesões por HPV positivo, e assim, não há reparação dos danos detetados no DNA. (Marklund & Hammarstedt, 2011)

Para além disso, é um facto constatar que o carcinoma das células escamosas da cabeça e pescoço, induzido pelo HPV, responde melhor aos tratamentos de quimioterapia e radioterapia relativamente aos outros casos (82% vs. 55%), tal como há maior probabilidade de ficar livre da doença durante 5 anos (75% vs. 14%), bem como maior capacidade de sobrevivência (79% vs. 19%). (Chai et al., 2015; Field & Lechner, 2015)

## **2.8. Prevenção da infeção por HPV**

Após o HPV ter sido reconhecido como causa do cancro do colo do útero, vários grupos de investigadores levaram a cabo investigações com o objetivo de desenvolver uma vacina contra o HPV. (Blitzer et al., 2014)

A principal ação da vacinação contra o cancro   incutir a resposta de células T, para que sejam eficazes contra células tumorais, de forma a erradicar a progressão do tumor ou mesmo de forma a resultar na sua cura. (Zaravinos, 2014)

Desta forma, foram desenvolvidas duas vacinas (bivalente e quadrivalente) para prevenir a infeção do HPV-16 e HPV-18, os dois tipos mais comuns associados ao cancro, embora o HPV-16 seja responsável pela maioria dos cancros. (Blitzer et al., 2014)

Para além disso, a vacina quadrivalente também protege contra o HPV-6 e HPV-11, ambos responsáveis por 90% de verrugas ano genitais (entre a zona anal e genital) prevenindo o aparecimento de verrugas genitais, além de impedir o pr -cancro vaginal, vulvar e anal. (Jemal et al., 2013)

Porém as vacinas não cont m DNA do HPV. Em vez disso, utiliza L1 do HPV, a principal proteína da capsíde que pode auto reunir-se em partículas semelhantes a vírus, e   a base para as vacinas de HPV, que geram anticorpos neutralizantes contra as proteínas de partículas semelhantes a vírus. Fortes evidências em ensaios clínicos suportam este argumento tanto para a vacina bivalente (HPV-16, 18), como para a vacina quadrivalente (HPV-6,11,16,18) contra infeções no colo do útero, infeções vaginais e infeções vulvares. No entanto, a vacina quadrivalente mostrou ter efetividade contra infeção ano genital (entre zona anal e zona genital), em homens. (Blitzer et al., 2014; Chai et al., 2015)



Por sua vez, se a infecção da orofaringe induzida por HPV é em grande parte associada aos comportamentos sexuais, a diminuição na prevalência da infecção genital por HPV devido à vacina, poderá reduzir indiretamente a incidência da infecção oral. Contudo a população com mais de 30 anos pode não beneficiar da vacinação, uma vez que estas vacinas são profiláticas e não resolvem infecções já provocadas por HPV. (Blitzer et al., 2014; Chai et al., 2015)

Assim, a prevenção primária para a infecção do HPV é a vacinação de indivíduos que de preferência não tenham dado início à atividade sexual, ou que de certa forma não tenham contraído a infecção. Contudo, a vacinação não dispensa que as mulheres não façam o exame citológico papanicolau. Pois, a proteção contra a infecção do HPV só terá um real impacto décadas depois. (Blitzer et al., 2014)

Embora as mulheres sejam as mais referenciadas no assunto da infecção por HPV, devido ao cancro do colo do útero, também os homens podem ser infetados por HPV aquando das práticas sexuais com mulheres infetadas, ou possivelmente, serem infetados por outros homens que já tenham contraído a infecção. Assim, as infecções são comuns em rapazes e em homens pelo que estes também devem ser vacinados contra o vírus, optando pela vacina quadrivalente que abrange o HPV-6, 11, 16 e 18, que mostrou eficácia na prevenção do desenvolvimento de lesões genitais externas e de lesões ano genitais. (Jr et al., 2012)

Mas se o papel do HPV no cancro do colo do útero está bem estabelecido e tem levado à utilização generalizada de vacinas para as mulheres jovens, também, o HPV está associado ao cancro vulgar e ao cancro vaginal, em mulheres, e associado ao cancro do pénis e ao cancro anal, em homens. Contudo, em ambos os sexos também há evidências de cancro orofaríngeo. (Hastings et al., 2015; Messadi, 2013)

Assim, segundo as recomendações do *Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP)*, a vacinação pode iniciar-se aos 9 anos, e recomenda a vacinação de rotina em meninas com idade entre 11 ou 12 anos com três doses de vacina, e de jovens com idade por volta dos 26 anos, que não tenham sido vacinadas anteriormente ou que não concluíram a série de 3 doses. Por sua vez, a vacinação de rotina dos rapazes deve ser com idades entre 11 ou 12 anos com três doses de vacina, bem como também de jovens entre os 21 anos que também não tenham sido vacinados anteriormente ou que não concluíram a série de 3 doses. (Hastings et al., 2015; Jemal et al., 2013)

Para além disso, o ACIP atualmente recomenda a vacinação para homens que tenham práticas sexuais com outros homens, ou por outro lado, em indivíduos imunodeprimidos, incluindo infetados pelo HIV, que por volta dos 26 anos ainda não tenham sido vacinados. (Hastings et al., 2015)

Mas foi no início deste ano de 2015, que surgiu uma segunda geração de vacinas. Assim, o *Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP)* recomendou uma nova vacina para o HPV, constituída por 9 valências do vírus. Surgiu a 9vHPV (Gardasil 9), como uma das três vacinas que estão disponíveis para a vacinação do HPV, (Tabela 6). Assim, a 9vHPV também é uma vacina constituída por uma partícula semelhante ao vírus. (Hastings et al., 2015)

Embora seja semelhante à vacina quadrivalente já conhecida (4vHPV), a 9vHPV contém partículas semelhantes ao vírus HPV -6, 11, 16 e 18, porém foram adicionadas partículas semelhantes ao vírus HPV -31, 33, 45, 52 e 58. (Hastings et al., 2015)

Nos Estados Unidos, cerca de 64% cancros não invasivos associados ao HPV foram atribuídos ao HPV-16 e/ou HPV-18 (65% em mulheres; 63% em homens), representando aproximadamente 21 300 novos casos, anualmente. Não obstante, cerca de 10% foram atribuídos aos 5 novos tipos de HPV adicionados à nova vacina 9vHPV, tal como o HPV -31, 33, 45, 52 e 58 (14% em mulheres; 4% em homens), representando 3 400 novos casos. Desta forma, denota-se a importância para o desenvolvimento de uma nova vacina que conseguisse abranger estes novos casos. (Hastings et al., 2015)

Assim, a 9vHPV (Gardasil 9) e a 4vHPV (Gardasil) são indicadas para o uso em jovens de ambos os sexos, no entanto a vacina bivalente 2vHPV (Cervarix), apenas contém HPV-16 e HPV-18, e é recomendada para jovens do sexo feminino. (Hastings et al., 2015)

A administração das vacinas é realizada de igual forma. Assim, 2vHPV, 4vHPV e 9vHPV são administradas numa série de 3 doses. Após a primeira toma, a segunda série da vacina é administrada pelo menos 1 a 2 meses depois da primeira dose, e a terceira dose ocorre 6 meses depois da primeira toma. No caso de a vacina ter de ser interrompida, não será necessário recomeçar as séries da vacina. (Hastings et al., 2015)

As vacinas para o HPV não são recomendadas para mulheres grávidas. No entanto, se esta se encontrar a meio das 3 doses da série da vacina, é necessário parar a vacinação e retomar no final da gravidez. Ainda assim, não é necessário a realização de nenhum teste de gravidez antes de começar a vacinação, tal como também não é necessária a interrupção da gravidez. (Hastings et al., 2015)

**Tabela 6- Características das três vacinas contra o HPV.** Adaptado de (Hastings et al., 2015)

| <b>Características</b> | <b>Bivalente (2vHPV)</b>   | <b>Quadrivalente (4vHPV)</b>                                    | <b>9-valente (9vHPV)</b>  |
|------------------------|--|---|---|
| <b>Marca</b>           | <b>Cervarix</b>  | <b>Gardasil</b>   | <b>Gardasil 9</b>   |
| <b>VLPs</b>            | 16, 18   | 6, 11, 16, 18   | 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52, 58                               |
| <b>Fabricante</b>      | GlaxoSmithKline  | Merck na Co., Inc.  | Merck na Co., Inc.  |
| <b>Fabrico</b>         | Linha celular do inseto <i>Trichoplusia ni</i> infetada com L1 que codifica o baculovírus recombinante | Expressão do L1 em leveduras de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | Expressão do L1 em leveduras de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> |
| <b>Volume por dose</b> | 0.5 mL   | 0.5 mL  | 0.5 mL  |
| <b>Administração</b>   | Intramuscular  | Intramuscular   | Intramuscular   |

### 2.8.1. Vacinação em Portugal

Tendo em conta as diferenças entre países, também há diferenças no esquema de vacinação que existe no nosso país e nos restantes países. Assim, em Portugal apenas dois tipos de vacina são comercializados. A vacina bivalente, ou Cervarix, que contempla os serotipos 16 e 18 e a tetravalente, ou Gardasil, que por sua vez, contempla os serotipos 16, 18, 6 e 11. Para além disso, a vacina contra o Papiloma Vírus Humano

faz parte do Programa Nacional de Vacinação (PNV) desde Outubro de 2008. (Direção - Geral da Saúde, 2014).

Assim, desde essa data, foi recomendada para ser administrada aos 13 anos de idade, apenas a raparigas, num esquema de 3 doses (0, 2, 6 meses). (Direção - Geral da Saúde, 2014).

No entanto, em 2014, mudanças no Resumo das Características do Medicamento, da vacina tetravalente - Gardasil®, levaram a Comissão Técnica de Vacinação a alterar o PNV para um esquema de duas doses. (Direção - Geral da Saúde, 2014)

Por conseguinte, a partir do dia 1 de Outubro de 2014, a vacinação universal de rotina no âmbito do PNV com a vacina contra o HPV, recomenda-se às raparigas com idades entre os 10 e os 13 anos de idade, inclusive. Ainda assim, no âmbito do PNV, a vacina pode ser iniciada até aos 18 anos de idade, exclusive, e completada (2ª ou 3ª dose) até aos 25 anos de idade. (Direção - Geral da Saúde, 2014)

Em suma, o PNV não abrange indivíduos do sexo masculino, embora os números sugerem que estes também podem transmitir a infeção e desenvolver lesões, para além de que a vacina Gardasil mostrou ter efetividade contra infeção ano genital, lesões que afetam mais frequentemente os homens. Assim, deveríamos estar mais próximos dos esquemas de vacinação propostos pela ACIP, que defendem a vacinação também em rapazes e homens, nos Estados Unidos (Tabela 7). (Direção - Geral da Saúde, 2014; (Hastings et al., 2015))

**Tabela 7- Comparação do programa de vacinação, entre Portugal e Estados Unidos (ACIP).**

Adaptado de (Direção - Geral da Saúde, 2014; Hastings et al., 2015)

| SEXO      | PORTUGAL                                    | ESTADOS UNIDOS (ACIP)  |
|-----------|---|--|
| RAPARIGAS | <b>10-13 ANOS</b><br><br><b>ATÉ 25 ANOS</b> | <b>11-12 ANOS</b><br><b>(MÍNIMO 9 ANOS)</b><br><b>ATÉ 26 ANOS</b>  |
| RAPAZES   | Ainda não há<br>indicação                   | <b>TODOS 11-12 ANOS (MÍNIMO 9)</b><br><b>ATÉ AOS 21 ANOS</b><br>Gays, Bissexuais até 26 anos<br>HIV, Imunodeprimidos até 26 anos |

## 2.9. Importância do Médico Dentista

Numa consulta de medicina dentária, o doente encontra-se na mão de um profissional de saúde, que para além dos tratamentos habituais ou do motivo da consulta, também tem o dever de observar toda a mucosa da cavidade oral, a fim de preservar a saúde oral dos seus doentes. Desta forma, o Médico Dentista pode ser o primeiro profissional de saúde a identificar lesões que possam vir a desempenhar um papel maligno, pois muitas vezes essas lesões são assintomáticas e não são identificáveis pelo doente. Para além disso, o Médico Dentista pode ser abordado acerca destas lesões e deve saber como atuar, quer alertando para possíveis lesões, quer de forma a resolver e a aconselhar sobre a lesão. Assim, é muito importante que saiba identificar lesões brancas ou vermelhas que sejam consideradas anormais, pois podemos estar perante uma lesão pré-maligna, em que a abordagem atempada pode resolver casos que seriam mais graves de tratar quando detetados tardiamente. Desta forma, podemos melhorar as taxas de sobrevivência dos nossos doentes, se uma área anormal de tecido for detetada numa fase precoce, isto é, se uma displasia for detetada e tratada antes da sua progressão maligna. (Messadi, 2013)

Contudo, muitas vezes   necessário a presença ou a suspeita de lesões provocadas pelo vírus, para que a maioria dos indivíduos procurem ajuda médica, ou quando a lesão acarreta algum desconforto ou dor. Por conseguinte, o Médico Dentista deverá estar apto para recolher amostras orais para biópsia, enviando estas para um laboratório de anatomia patológica. (Messadi, 2013)

Assim, um diagnóstico precoce continua a ser o principal fator determinante para o tratamento do cancro oral e orofaringe, pois muitas vezes   na consulta de medicina dentária, que existe o primeiro contacto entre um profissional de saúde e o aparecimento das lesões. Contudo, esta meta nem sempre   alcançada e por vezes são detetadas em est dios bastante avançados, sendo que o Médico Dentista deverá ter um comportamento adequado   situação, saber alertar e aconselhar o paciente para o próximo passo. (Daniel et al., 2006)

## **2.10. Direções Futuras**

Vários grupos de investigadores têm mantido interesse para compreender melhor a biologia do carcinoma da cabeça e pescoço induzido pelo HPV, usando amostras *in vitro* e em *in vivo* e melhorar a prevenção, rastreio, diagnóstico, e ainda para identificar e validar os alvos terapêuticos. (Blitzer et al., 2014)

Infelizmente, o número limitado de linhas de células com HPV positivo disponível, tem impedido progressos na compreensão da sensibilidade destes cancros   terapêutica corrente e experimental. Assim, pretende-se comparar a sensibilidade de HPV+ e HPV- na cabeça e pescoço, a uma variedade de terapias, para avaliar os mecanismos subjacentes às respostas diferenciadas entre estes dois, na esperança de identificar melhores abordagens terapêuticas. (Blitzer et al., 2014)

### **III. Conclusões**

O crescente número de lesões na cabeça e pescoço, provocadas pelo Papiloma Vírus Humano, faz com que esta seja uma realidade que merece atenção por parte de todos, mas o fato de serem, muitas vezes, os profissionais de saúde oral os primeiros a detetar estas lesões, torna este tema especialmente importante e interessante.

A maioria da população infetada muitas vezes não está corretamente informada acerca das possíveis complicações relacionadas com as doenças sexualmente transmissíveis, e vive com o vírus sem saber que a infeção poderá provocar lesões. Assim, um indivíduo infetado pode desenvolver lesões relacionadas com a infeção, e estas passarem despercebidas.

No entanto, na consulta de medicina dentária, a abordagem clínica deverá passar pela observação geral e cuidadosa de toda a cavidade oral e orofaringe, não desvalorizando pequenas lesões, questionando sempre o doente acerca do surgimento das mesmas. É importante que o Médico Dentista tenha conhecimentos abrangentes acerca da patologia, pelo que deverá estar ciente das suas manifestações clínicas e da evolução das lesões. Desta forma, o papel do Médico Dentista deve passar pela prevenção, bem como pelo diagnóstico de lesões.

Assim, no presente trabalho, foram identificados vários parâmetros no que concerne ao Papiloma Vírus Humano, a fim de compreender melhor o funcionamento do vírus e de que forma alguns indivíduos infetados expressam as lesões, e em contrapartida, outros não, mas mesmo assim poderão transmiti-las.

Relacionar os diversos tipos de HPV e caracterizá-los em tipos de alto e de baixo risco consoante o seu carácter maligno, de forma a identificar os mais comuns e relacioná-los com as lesões que provocam, agrupando, portanto, em lesões benignas, potencialmente malignas ou malignas.

Também foi abordada a transmissão do HPV, de modo a alertar para os novos comportamentos sexuais, e tirar o estigma de que o HPV é um vírus preocupante apenas para as mulheres, por ser mais conhecido pelo cancro do colo do útero, mas também, preocupante para os homens que, por sua vez, podem contrair e transmitir a infeção de diversas formas.

O papel do Médico Dentista passa não só pelo diagnóstico de lesões, como também pelo seu tratamento, após a identificação das mesmas. Por conseguinte, deverá ter conhecimentos que abrangem os procedimentos de recolha de tecido lesado ou com suspeita de lesão, para que estes sejam analisados e as lesões diagnosticadas, atempadamente. Um diagnóstico tardio poderá ter repercussões drásticas na vida destes doentes.

Por fim, este é um tema que ainda carece de mais estudos, pois os números são recentes, mas tendem a aumentar todos os anos. Deste modo, é necessário contribuir para travar esta infeção e as suas consequências, através da atenção e observação cuidada sempre que se observa um indivíduo, em consultas de rotina ou de outro tipo.



#### IV. Bibliografia

- Anayannis, N. V. J., Schlecht, N. F., & Belbin, T. J. (2015). Epigenetic Mechanisms of Human Papillomavirus–Associated Head and Neck Cancer. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 150(5), 15080157005. <http://doi.org/10.5858/arpa.2014-0554-RA>
- Antonio, G., Filho, C., & Javaroni, C. (2006). Relação Entre O Estadiamento , O Tratamento E a Sobrevida No Relationship Between Stage , Treatment and Survival for Pharynx. *Revista Do Colégio Brasileiro de Cirurgia*, 33, 207–210.
- Betiol, J., Villa, L. L., & Sichero, L. (2013). Impact of HPV infection on the development of head and neck cancer. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research = Revista Brasileira de Pesquisas Médicas E Biológicas / Sociedade Brasileira de Biofísica ... [et Al.]*, 46(3), 217–26. <http://doi.org/10.1590/1414-431X20132703>
- Blitzer, G. C., Smith, M. a, Harris, S. L., & Kimple, R. J. (2014). Review of the clinical and biologic aspects of human papillomavirus-positive squamous cell carcinomas of the head and neck. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 88(4), 761–70. <http://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2013.08.029>
- Boscolo-Rizzo, P., Del Mistro, A., Bussu, F., Lupato, V., Baboci, L., Almadori, G., ... Paludetti, G. (2013). New insights into human papillomavirus-associated head and neck squamous cell carcinoma. *Acta Otorhinolaryngologica Italica : Organo Ufficiale Della Società Italiana Di Otorinolaringologia E Chirurgia Cervico-Facciale*, 33(2), 77–87. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3665382&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Chai, R. C., Lambie, D., Verma, M., & Punyadeera, C. (2015). Current trends in the etiology and diagnosis of HPV-related head and neck cancers. *Cancer Medicine*, n/a–n/a. <http://doi.org/10.1002/cam4.424>

- Chaturvedi, A. K. (2012). Epidemiology and Clinical Aspects of HPV in Head and Neck Cancers. *Head and Neck Pathology*, 6(SUPPL. 1), 16–24. <http://doi.org/10.1007/s12105-012-0377-0>
- Cubie, H. a. (2013). Diseases associated with human papillomavirus infection. *Virology*, 445(1-2), 21–34. <http://doi.org/10.1016/j.virol.2013.06.007>
- D’Souza, G., Cullen, K., Bowie, J., Thorpe, R., & Fakhry, C. (2014). Differences in oral sexual behaviors by gender, age, and race explain observed differences in prevalence of oral human papillomavirus infection. *PLoS ONE*, 9(1), 19–21. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0086023>
- Dalianis, T. (2014). Human papillomavirus and oropharyngeal cancer, the epidemics, and significance of additional clinical biomarkers for prediction of response to therapy (review). *International Journal of Oncology*, 45(6), 1799–1805. <http://doi.org/10.3892/ijo.2014.2355>
- Daniel, F. I., Granato, R., Grando, L. J., & Fabro, S. M. L. (2006). Carcinoma de células escamosas em rebordo alveolar inferior: diagnóstico e tratamento odontológico de suporte. *Jornal Brasileiro de Patologia E Medicina Laboratorial*, 42(4), 279–283. <http://doi.org/10.1590/S1676-24442006000400009>
- Direcção-Geral da Saúde. (29 de Setembro de 2014 atualizada a 01 de outubro 2014). Circular Normativa. *PROGRAMA NACIONAL DE VACINAÇÃO*. Portugal.
- Do Canto, A. M., Müller, H., De Freitas, R. R., & Da Silva Santos, P. S. (2010). Líquen plano oral (LPO): Diagnóstico clínico e complementar. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 85(5), 669–675. <http://doi.org/10.1590/S0365-05962010000500010>
- Fakhry, C., & D’Souza, G. (2013). Discussing the diagnosis of HPV-OSCC: Common questions and answers. *Oral Oncology*, 49(9), 863–871. <http://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2013.06.002>
- Feller, L., Khammissa, R. A., Wood, N. H., & Lemmer, J. (2009). Epithelial maturation and molecular biology of oral HPV. *Infectious Agents and Cancer*, 4, 16. <http://doi.org/10.1186/1750-9378-4-16>

- Ferraz, L. D. C., Beatriz, A., Santos, R., & Discacciati, M. G. (2012). Ciclo celular , HPV e evolução da neoplasia intraepitelial cervical : seleção de marcadores biológicos. *J Health Sci Ins*, 30, 107–111.
- Field, N., & Lechner, M. (2015). Exploring the implications of HPV infection for head and neck cancer. *Sexually Transmitted Infections*, 0(0), 2014–2016. <http://doi.org/10.1136/sextrans-2014-051808>
- Filho, B. (2006). Resumo / Summary, 72(2), 272–282.
- Gaetti-jardim, E. C., Costa, C., Pereira, S., Pozzi, F., & Guastaldi, S. (2010). Carcinoma de células escamosas de grandes dimensões, 9–13.
- Gonsalves, W. C., Chi, A. C., & Neville, B. W. (2007). Common oral lesions: Part II. Masses and neoplasia. *American Family Physician*, 75(4), 509–512.
- Gorsky, M., & Epstein, J. B. (2011). Oral lichen planus: Malignant transformation and human papilloma virus: A review of potential clinical implications. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 111(4), 461–464.
- Hastings, D. L., Harrington, K. J., Kutty, P. K., Rayman, R. J., Spindola, D., Diaz, M. H., ... Safranek, T. J. (2015). Mycoplasma pneumoniae Outbreak in a Long-Term Care Facility - Nebraska, 2014. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, 64(11), 296–9. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25811678>
- Jemal, A., Simard, E. P., Dorell, C., Noone, A. M., Markowitz, L. E., Kohler, B., ... Edwards, B. K. (2013). Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2009, featuring the burden and trends in human papillomavirus (HPV)-associated cancers and HPV vaccination coverage levels. *Journal of the National Cancer Institute*, 105(3), 175–201. <http://doi.org/10.1093/jnci/djs491>
- Jr, M., Penny, M. E., Aranda, C., Vardas, E., Jessen, H., Hillman, R., ... Haupt, R. M. (2012). Efficacy of Quadrivalent HPV Vaccine against HPV Infection and Disease in Males, 364(5), 401–411. <http://doi.org/10.1056/NEJMoa0909537>.Efficacy

- Leto, M. D. G. P., Santos Júnior, G. F. Dos, Porro, A. M., & Tomimori, J. (2011). Infecção pelo papilomavírus humano: etiopatogenia, biologia molecular e manifestações clínicas. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 86(2), 306–317. <http://doi.org/10.1590/S0365-05962011000200014>
- Marklund, L., & Hammarstedt, L. (2011). Impact of HPV in oropharyngeal cancer. *Journal of Oncology*. <http://doi.org/10.1155/2011/509036>
- Marur, S., D'Souza, G., Westra, W. H., & Forastiere, A. A. (2010). HPV-associated head and neck cancer: A virus-related cancer epidemic. *The Lancet Oncology*.
- McCord, C., Xu, J., Xu, W., Qiu, X., Muhanna, N., Irish, J., ... Bradley, G. (2014). Association of human papilloma virus with atypical and malignant oral papillary lesions. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*, 117(6), 722–732. <http://doi.org/10.1016/j.oooo.2014.02.003>
- Medina, M., Medina, M., & Merino, L. (2010). Consideraciones actuales sobre la presencia de papilomavirus humano en la cavidad oral. *Avances En ...*, (1), 71–80. Retrieved from [http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S0213-12852010000200002&script=sci\\_arttext](http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S0213-12852010000200002&script=sci_arttext)
- Messadi, D. V. (2013). Diagnostic aids for detection of oral precancerous conditions. *International Journal of Oral Science*, 5(2), 59–65. <http://doi.org/10.1038/ijos.2013.24>
- Michl, P., Pazdera, J., Prochazka, M., Pink, R., & Stosova, T. (2010). Human papillomavirus in the etiology of head and neck carcinomas. *Biomedical Papers*, 154(1), 9–12. <http://doi.org/10.5507/bp.2010.004>
- Mirghani, H., Amen, F., Moreau, F., Guigay, J., Ferchiou, M., Melkane, A. E., ... Lacau St Guily, J. (2014). Human papilloma virus testing in oropharyngeal squamous cell carcinoma: What the clinician should know. *Oral Oncology*, 50(1), 1–9. <http://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2013.10.008>

- Mojtahedi, Z., Hashemi, S. B., Khademi, B., Karimi, M., Haghshenas, M. R., Fattahi, M. J., & Ghaderi, A. (2010). P53 Codon 72 Polymorphism Association With Head and Neck Squamous Cell Carcinoma, *76*(3), 316–320.
- Mravak-Stipetić, M., Sabol, I., Kranjčić, J., Knežević, M., & Grce, M. (2013). Human Papillomavirus in the Lesions of the Oral Mucosa According to Topography. *PLoS ONE*, *8*(7). <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0069736>
- Nagaraj, M. (2011). Verruca Vulgaris of the Tongue. *Journal of Maxillofacial and Oral Surgery*, *12*(3), 329–332. <http://doi.org/10.1007/s12663-010-0097-5>
- Percinoto, A. C., Danelon, M., Crivelini, M., Cunha, R., & Percinoto, C. (2014). Condyloma acuminata in the tongue and palate of a sexually abused child: a case report. *BMC Research Notes*, *7*(1), 467. <http://doi.org/10.1186/1756-0500-7-467>
- Ramos, V., José, M., & Ferreira, C. (2012). Cadernos UniFOA Cadernos UniFOA. *Cadernos UniFOA*, *nº 20*, 85–94.
- Schache, a G., Liloglou, T., Risk, J. M., Jones, T. M., Ma, X.-J., Wang, H., ... Robinson, M. (2013). Validation of a novel diagnostic standard in HPV-positive oropharyngeal squamous cell carcinoma. *British Journal of Cancer*, *108*(6), 1332–9. <http://doi.org/10.1038/bjc.2013.63>
- Sergipe, F. De. (2008). Papiloma de células escamosas da cavidade oral, 5458.
- Silva, M. P., Soave, D. F., Ribeiro-Silva, A., & Poletti, M. E. (2012). Trace elements as tumor biomarkers and prognostic factors in breast cancer: a study through energy dispersive x-ray fluorescence. *BMC Research Notes*, *5*(1), 194. <http://doi.org/10.1186/1756-0500-5-194>
- Surgery, N., & Surgery, N. (2014). HPV in oropharyngeal cancer : the basics to know in clinical practice, 299–309.
- Thiers, B. H. (2008). Case–Control Study of Human Papillomavirus and Oropharyngeal Cancer. *Yearbook of Dermatology and Dermatologic Surgery*, 2008, 142–143. [http://doi.org/10.1016/S0093-3619\(08\)70784-6](http://doi.org/10.1016/S0093-3619(08)70784-6)

- Tribius, S., & Hoffmann, M. (2013). Human papilloma virus infection in head and neck cancer. *Deutsches Ärzteblatt International*, 110(11), 184–90, 190e1. <http://doi.org/10.3238/arztebl.2013.0184>
- Ural, A., Arslan, S., Ersöz, Ş., & Değer, B. (n.d.). Verruca vulgaris of the tongue : a case report with literature review, 136–138.
- Westra, W. H. (2009). The changing face of head and neck cancer in the 21st century: The impact of hpv on the epidemiology and pathology of oral cancer. *Head and Neck Pathology*, 3(1), 78–81. <http://doi.org/10.1007/s12105-009-0100-y>
- Woods, R., O'Regan, E. M., Kennedy, S., Martin, C., O'Leary, J. J., & Timon, C. (2014). Role of human papillomavirus in oropharyngeal squamous cell carcinoma: A review. *World Journal of Clinical Cases*, 2(6), 172–93. <http://doi.org/10.12998/wjcc.v2.i6.172>
- Xu, C. C., Biron, V. L., Puttagunta, L., & Seikaly, H. (2013). HPV status and second primary tumours in oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Journal of Otolaryngology - Head & Neck Surgery = Le Journal D'oto-Rhino-Laryngologie et de Chirurgie Cervico-Faciale*, 42(1), 36. <http://doi.org/10.1186/1916-0216-42-36>
- Yazdanpanah, M. J., Banihashemi, M., Pezeshkpoor, F., Famili, S., Layegh, P., Katebi, M., & Hamidi, H. (2009). Oral submucous fibrosis in a young patient. *Acta Dermatovenerologica Alpina, Panonica, et Adriatica*, 18(4), 176–178.
- Zaravinos, A. (2014). An updated overview of HPV-associated head and neck carcinomas. *Oncotarget*, 5(12), 3956–69. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24970795>